

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## RECHERCHES SUR L'ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA TUBERCULOSE DANS LES STEPPES DES KALMOUKS

par EL. METCHNIKOFF, ET. BURNET et L. TARASSEVITCH.

### I

Le fait qu'un très grand nombre d'hommes échappent à la tuberculose malgré l'extraordinaire diffusion du virus de cette maladie est le plus souvent interprété dans le sens d'une immunité naturelle antituberculeuse. On pense qu'il existe une résistance de races et, encore plus, une résistance individuelle à la tuberculose. Ce n'est que dans ces derniers temps que l'on a commencé à envisager de plus près ce phénomène si important et en même temps si extraordinaire. On s'est demandé si cette immunité, soi-disant naturelle, ne reposerait pas sur une sorte de vaccination inconsciente, contractée pendant l'enfance, et rentrant par conséquent dans la catégorie des phénomènes d'immunité acquise. On connaît un cas analogue, celui qui concerne la fièvre typhoïde. Beaucoup de personnes, malgré leur contact fréquent avec le virus de la typhoïde, restent cependant indemnes, ce qui a fait penser autrefois que cette maladie n'est que peu ou pas du tout contagieuse. Mais le fait qu'un grand nombre d'hommes et surtout les enfants contractent souvent une typhoïde légère, capable de passer inaperçue, a suggéré l'idée d'un effet vaccinant. Cette supposition cadre parfaitement avec tout l'en-

semble des données sur la fièvre typhoïde, ce qui fait qu'elle est acceptée d'une façon générale.

N'en serait-il pas de même pour la tuberculose? Pendant longtemps, trop longtemps même, on ne voulait pas admettre sa nature contagieuse, précisément à cause de ce fait que beaucoup d'hommes ne la prennent pas, malgré les très fréquentes occasions de la contracter. Parmi les signataires de ce mémoire, il s'en trouve un qui, dans sa jeunesse, a été pendant plusieurs années en contact très intensif avec sa femme, atteinte de tuberculose mortelle, et qui cependant est absolument resté indemne.

A côté de ces cas d'immunité antituberculeuse, il en existe d'autres de caractère tout opposé. Lorsque les peuples primitifs ou peu cultivés entrent en contact avec les Européens, ils contractent fatalement la tuberculose grave, très souvent mortelle. Römer (1), un des savants qui soutiennent la thèse que la résistance à la tuberculose repose sur une immunisation inconsciente, a réuni récemment plusieurs exemples typiques. D'après ses propres observations, la tuberculose est rare parmi les habitants des pampas argentines; mais lorsque ces gens s'établissent dans la capitale, ils deviennent facilement tuberculeux et meurent en grand nombre de consommation. Dans cet exemple, l'immunité relative des habitants permanents de Buenos-Ayres ne peut guère être expliquée par une résistance de race, car celle-ci est la même pour les individus venant des pampas à la ville. Il a été depuis longtemps signalé que les nègres africains échappent à la tuberculose dans leur pays natal, mais en meurent peu de temps après leur arrivée en Europe. Les médecins militaires autrichiens ont constaté que, dans les troupes, la tuberculose se rencontre le plus souvent parmi les soldats arrivés de Bosnie-Herzégovine, où justement cette maladie n'est pas du tout fréquente.

Un exemple du même ordre a été depuis longtemps observé parmi les Kalmouks. Les Kalmouks adolescents qui abandonnaient leurs steppes pour faire leurs études dans les villes contractaient la tuberculose presque fatalement et en mouraient le plus souvent. Dans son livre sur l'assainissement de la

(1) Tuberkulose-Immunität, *Medizinisch kritische Blätter*, t. I.



Russie, le professeur Khlopine (1) s'exprime comme suit à ce sujet : « Généralement, les Kalmouks qui font leurs études dans les écoles secondaires ne finissent pas les cours ; arrivés à la cinquième ou sixième année, ils commencent à s'affaiblir, deviennent anémiques et finissent par contracter la tuberculose. » Le mal est tellement général que l'école des filles kalmoukes à Astrakan a été supprimée, et il est même question de transporter l'école secondaire des garçons de cette ville dans les steppes.

En présence de ces faits, nous avons pensé qu'il était d'intérêt général, dans l'étude de la tuberculose, de les examiner de plus près et avec la plus grande précision possible. Depuis la belle découverte de von Pirquet, il est devenu facile, par l'application de la cutiréaction à la tuberculose, d'établir d'une façon exacte l'extension de l'infection tuberculeuse dans une population. Aussi a-t-on fait plusieurs séries de recherches dans cette voie. Ainsi Monti et Hamburger (2) ont constaté à Vienne, sur un nombre total de 509 enfants âgés de un à quatorze ans, qu'un grand nombre parmi eux ont donné la réaction positive de von Pirquet, ce qui prouve qu'ils renfermaient dans leur organisme quelque foyer bacillaire, sans que pour cela ils fussent atteints de tuberculose clinique. Seulement, tandis que les enfants de la deuxième année n'accusaient qu'un pourcentage faible (9 p. 100), les enfants âgés de dix à quatorze ans manifestaient déjà la cutiréaction positive dans 93-94 p. 100 des cas. Ch. Mantoux (3) a étendu ces investigations sur les enfants de Paris par un procédé d'intradermoréaction, différent de celui de von Pirquet. Sur 174 petits malades de zéro à quinze ans, observés à l'hôpital des Enfants-Malades, la réaction positive dans la première année s'est présentée dans 2,4 p. 100, tandis que dans la période de sept à quinze ans elle avait déjà atteint 82 p. 100. Chez l'adulte (de quinze à soixante ans) non cliniquement tuberculeux, l'intradermoréaction a été positive aussi dans 82 p. 100 des cas (sur 118 sujets hospitalisés).

(1) *Matériaux pour l'assainissement de la Russie*, Saint-Petersbourg, 1911, p. 89 (en russe).

(2) *Beiblatt zu d. Mittheil. d. Gesellsch. f. innere Medizin*, etc., Vienne, 1909, n° 3, p. 59.

(3) *La Presse médicale*, 5 janvier 1910, n° 2.

Plus récemment, Calmette, Grysez et R. Letulle (1) ont examiné 4.226 sujets lillois par la réaction de v. Pirquet. Ils ont établi que la contamination tuberculeuse à Lille est au moins aussi répandue qu'à Paris. Ainsi, déjà dans la première année, les enfants ont donné 8,7 p. 100 de réactions positives. Les enfants pris entre cinq et quinze ans ont présenté la réaction dans 81,4 p. 100 des cas, tandis que les enfants au-dessus de quinze ans avec les adultes l'ont donnée chez 87,7 p. 100.

A côté de ces renseignements concernant les Autrichiens et les Français habitant les grands centres civilisés, il serait intéressant d'avoir, pour comparaison, quelques données sur les peuples plus primitifs.

Dans cet ordre d'idées nous n'avons trouvé dans la littérature que deux séries d'observations. Wagon (2), opérant simultanément avec la cuti et l'ophtalmo-réaction (qui d'ailleurs ont marché d'accord), à Kindia, en Guinée française, sur 100 adultes noirs pris au hasard des consultations médicales, a obtenu 12 réactions positives. Six de ces 12 sujets avaient des signes d'adénopathie trachéo-bronchique et quelques troubles respiratoires. Or ces 12 noirs (sauf un sur lequel on n'a pu avoir de renseignements) étaient des dépayés et exerçaient des professions qui les avaient mis longtemps en contact avec des Européens coloniaux ou des négociants syriens, parmi lesquels la tuberculose sous toutes ses formes est notoirement fréquente. Ainsi, sur la côte occidentale d'Afrique, les indigènes ne se tuberculisent qu'au contact des Européens.

Les observations de Peiper (3) portent sur les nègres et les Indous des colonies allemandes de l'Afrique orientale. La réaction de v. Pirquet appliquée à un nombre restreint de ces sujets (156 nègres et 85 indous) a démontré que le résultat positif se rencontre beaucoup plus souvent chez ces Indous que chez les nègres; ceux-ci se contaminent auprès des premiers. La coloration noire de la peau des nègres n'empêcherait-elle pas de distinguer la réaction positive lorsqu'elle n'est pas très prononcée? Sous ce rapport, les Kalmouks conviennent beaucoup

(1) *La Presse médicale*, n° 63, 9 août 1911.

(2) *Bull. Soc. Pathologie exotique*, 12 janvier 1910, et *Caducée*, 1910, n° 4.

(3) *Beihefte z. Archiv f. Schiffs u. Tropenhygiene*, t. XV, n° 2, 1911.



mieux, car si leur peau est bronzée quelquefois, elle est toute blanche chez la majorité des sujets.

Au commencement de nos études nous avons fait l'épreuve des deux méthodes. A un bras nous faisions deux petites scarifications au vaccinostyle, que nous mouillions avec une solution à 50 p. 100 de tuberculine brute, tandis qu'à l'autre bras nous appliquions l'intradermoréaction en injectant dans le derme une goutte de solution de tuberculine (précipitée) à 1 p. 5.000. Les résultats, dans environ 300 cas, étant, à quelques exceptions près, les mêmes des deux côtés, nous continuâmes nos recherches uniquement par la méthode de v. Pirquet, plus commode sous tous les rapports que l'intradermoréaction. Dans la très grande majorité des cas, la réaction positive ou négative se présentait avec une netteté qui ne laissait rien à désirer. Le petit nombre des cas tant soit peu douteux a été éliminé de notre statistique, qui compte en tout 3.264 sujets, dont 2.949 Kalmouks de tout âge et 315 d'autres nationalités (pour la plupart des Russes vivant dans les steppes kalmoukes, en faible partie des Tatars, Kirghises et Turkmens, habitant le Bazar des Kalmouks).

## II

Avant de présenter au lecteur insuffisamment documenté les résultats de nos recherches, il est nécessaire de le renseigner en quelques lignes sur ce que c'est que les Kalmouks. Par ce nom on a désigné les Mongols restés dans les steppes de la rive droite de la Volga, après l'émigration d'une grande partie de leurs compatriotes en Dzoungarie à la fin du XVIII<sup>e</sup> siècle. Isolés des peuples voisins par leur religion bouddhiste lamaïte, ainsi que par certaines conditions géographiques, les Kalmouks ont conservé leur type physique, aussi bien que leurs habitudes et leur langue, d'une façon beaucoup plus complète que les Tatars et les Kirghises de la région de la Volga. S'adonnant pour la plupart à l'élevage des bestiaux (moutons, chameaux, chevaux et bovidés), la grande majorité des Kalmouks mènent une vie nomade, passant toute leur existence sous des tentes couvertes de feutre. Ce n'est que dans les districts périphériques que les Kalmouks habitent pendant quelques

mois d'hiver dans des cabanes en terre glaise, de construction très primitive. Un certain nombre de Kalmouks des districts avoisinant la Volga font le métier de pêcheurs, ce qui les rend plus sédentaires que les Kalmouks pasteurs. Malgré cela ils vivent aussi la plus grande partie de l'année sous des tentes et ne passent que l'hiver dans des cabanes.

Les Kalmouks jouissent donc beaucoup du plein air et se trouvent sous ce rapport dans de bonnes conditions hygiéniques, contrebalancées cependant par la malpropreté dans laquelle ils vivent et par l'abondance des insectes parasites qui peuplent leurs corps et leurs vêtements. Les Kalmouks se nourrissent de viande autant qu'ils le peuvent. Ils sont méprisés par les Russes et les musulmans, surtout à cause de leur habitude de manger la viande des bestiaux morts de maladies : ainsi ils se contentent d'enlever la pustule charbonneuse du cadavre, dont la chair leur sert de nourriture. Le lait est en partie consommé comme tel, en partie transformé en koumiss (préparé avec le lait de jument) et surtout en une espèce d'eau-de-vie (araki). Les Kalmouks préparent avec la farine des céréales une sorte de galette qui leur tient lieu du pain, considéré comme une délicatesse.

Bien qu'il n'existe pas de preuves suffisantes de la dépopulation des steppes kalmoukes (qui, sur une superficie de plus de six millions d'hectares, comptent environ 120.000 à 140.000 Kalmouks), il n'est point douteux que le nombre de ces Mongols est loin d'augmenter dans la même proportion que celui des Russes et des peuples musulmans voisins. Les familles ayant plus de trois ou quatre enfants sont rares et les vieillards de soixante ans et au delà sont peu nombreux. La mortalité infantile est considérable. La syphilis est très répandue et la contamination se fait surtout par voie extra-génitale, à l'aide de tasses et de pipes qui se promènent de bouche en bouche. Cette maladie, tout en faisant elle-même beaucoup de ravages, prépare le terrain à d'autres maladies, aidée en cela par l'alcoolisme, répandu parmi toute la population kalmouke. Aussi celle-ci se montre-t-elle très sensible même vis-à-vis de maladies relativement bénignes. La fièvre récurrente, qui généralement ne donne qu'une mortalité de 2 à 5 p. 100, enlève parmi les Kalmouks jusqu'à 20 p. 100 de ces malades, lesquels se



contaminent certainement par l'intermédiaire des pous de vêtement, qui grouillent parmi eux. La variole fait [aussi beaucoup de victimes et ceci même malgré la vaccination jennérienne. Toutes les maladies qui se transmettent par le contact et sévissent surtout chez les peuples malpropres sont très répandues parmi les Kalmouks : ainsi la gale et les diverses maladies des yeux, trachome, conjonctivites suppurées, etc. La fréquence de ces affections oculaires suffisait à nous faire rejeter l'ophtalmo-réaction.

### III

Comme fléau principal des Kalmouks, il faut compter, à côté de la syphilis, de la variole et de l'alcoolisme, la tuberculose. D'après les renseignements que nous avons pu recueillir au bureau de la statistique médicale du gouvernement d'As-trakhan, la tuberculose pulmonaire se rencontre dans toute l'étendue de ces steppes, mais présente une fréquence moins grande dans les districts centraux, plus éloignés de la population russe. La tuberculose des os et du système lymphatique est plus répandue que la phthisie pulmonaire et, dans sa distribution, elle accuse moins de régularité que cette dernière, étant parfois aussi fréquente dans le centre que dans certaines régions de la périphérie. Ces données se rapportent à la période de six ans 1905-1910.

D'après le relevé du livre de consultation du district Ikitze-khouri (le plus central, et dont la population kalmouke, d'environ 10.000 habitants, se trouve la moins rapprochée des Russes), dans l'espace d'une année, il a été noté 14 cas de tuberculose pulmonaire et 40 cas de tuberculose d'autres organes, sans compter celle des ganglions lymphatiques. Dans le même district, dans l'espace de cinq mois (1<sup>er</sup> janvier-31 mai 1911), se sont présentés à la consultation 5 malades atteints de tuberculose pulmonaire, 13 malades atteints de tuberculose d'autres organes (pour la plupart des os) et 15 malades souffrant de maladies du système lymphatique, parmi lesquelles la tuberculose ganglionnaire occupe une place prépondérante.

Les observations de l'un de nous, recueillies pendant notre

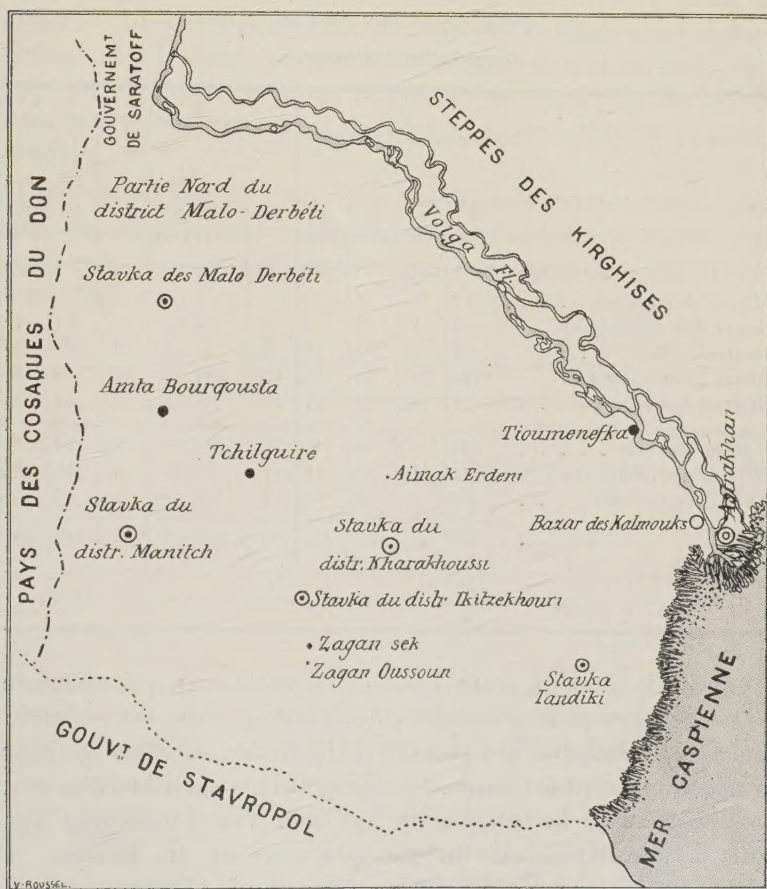
voyage dans les steppes kalmoukes en mai et juin 1911, ont permis de diagnostiquer parmi les Kalmouks la tuberculose pulmonaire dans 22 cas, la tuberculose des os et des articulations dans 25 cas, la tuberculose ganglionnaire dans 45 cas et le lupus dans un cas seulement. Tous les cas de phthisie pulmonaire bien caractérisée ont été observés dans les régions périphériques des steppes (14 cas dans le district méridional d'Elista, tout près des habitations russes, et 8 cas au Bazar des Kalmouks, localité située à quelques kilomètres de la ville d'Astrakhan). La tuberculose des os et des ganglions, bien qu'existante dans les districts centraux (2 dans une partie de l'Ikitzekhouri et 8 dans une partie de Kharakoussi), y est notablement moins fréquente que dans les régions voisines des Russes (11 à Elista; 9 au Bazar des Kalmouks) (1).

Cet aperçu sommaire et purement approximatif indique que la tuberculose chez les Kalmouks est plus répandue dans la partie des steppes qui se trouve en rapports fréquents avec la population russe. Des données plus précises ont pu être fournies par l'application des réactions à la tuberculine. C'est pendant les mois de mai et de juin de l'année courante qu'ont été exécutées ces recherches. Commencées à Astrakhan même, sur un petit nombre de Kalmouks résidant dans cette ville, elles ont été étendues vers les points les plus variés des steppes. Séparé d'Astrakhan par la Volga, se trouve le Bazar des Kalmouks, centre de commerce de bétail, habité par un millier de Kalmouks, ainsi que par un nombre beaucoup plus petit de Russes, Tartares, Kirghises et Turkmen. De là, notre mission s'est dirigée vers la propriété du prince kalmouk Tioumène, située non loin de la Volga, et habitée par un grand nombre d'employés du prince et des moines bouddhistes. Des Kalmouks travaillant dans les pêcheries de la Volga ont été examinés dans le district Iandiki, déchiqueté par une quantité de petites baies communiquant avec le fleuve. A côté de ces régions périphériques des steppes, au voisinage de la Volga, où les Kalmouks

(1) Nous n'avons pas encore précisé la nature des bacilles tuberculeux dans les ganglions; il n'est pas probable qu'il s'agisse de bacilles bovins, étant donné que les bovidés des steppes kalmoukes ne sont que rarement tuberculeux, ainsi qu'il résulte des recherches de M. Choukevitch, qui seront publiées dans ces *Annales*.



se trouvent en rapports continuels avec la population russe et musulmane, nous avons exécuté nos recherches sur des Kalmouks habitant les districts limitrophes des gouvernements de Stavropol et de Saratoff ainsi que du pays des cosaques du



Don, habités en majeure partie par des Russes : les districts de Manitch et de Malo-Derbéti.

Nos investigations se sont étendues également sur les deux districts les plus centraux des steppes kalmoukes, ceux de Kharakhoussi et de Ikitzekhour (v. la carte), dont la population est presque exclusivement composée de Kalmouks éleveurs de bestiaux et pasteurs, population la plus purement nomade, ne

quittant pas les tentes (kibitkas), même en plein hiver. Les Russes ne se rencontrent dans ces districts que dans des centres administratifs sédentaires (stavkas) en qualité de fonctionnaires et de commerçants.

## RÉGIONS PÉRIPHÉRIQUES DES STEPPES KALMOUKES

## Population kalmouke.

	HOMMES		FEMMES		ENFANTS 0-5 ans.		ENFANTS 6-10 ans.		ENFANTS 11-15 ans.	
	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.
Ville d'Astrakhan . . . . .	42	0	7	4			8 (*)	5		
Bazar des Kalmouks . . . . .	61	1	18	3	6	7	15	0	14	1
Tiouménefka . . . . .	18	0	11	2	2	4	3	2	20	3
District de Jandiki . . . . .	183	31	84	53	18	96	53	63	42	16
District de Manitch . . . . .	107	18	83	31	13	46	18	6	31	3
Partie nord du district Malo-Derbéti . . . . .	94	3	66	12	19	29	33	12	24	1
Stavka des Malo-Derbéti . . . . .	113	18	49	8	11	3	19	2	12	1
Amta Bourgousta . . . . .	58	5	22	3	1	5	9	7	5	5
Total . . . . .	646	76	340	113	70	160	163	97	148	30

(\*) Etant donné le petit nombre d'enfants, nous les avons réunis en une colonne.

Il suffit de jeter un coup d'œil sur les tableaux qui résument nos recherches pour s'assurer que la tuberculose est répandue dans toute l'étendue des steppes kalmoukes, sans en épargner les endroits les plus retirés. Seulement, la répartition des réactions positives à la tuberculine est loin d'être uniforme dans toute la population. De même que partout en Europe, les enfants en bas âge réagissent beaucoup moins souvent que les adultes et les adolescents. Bien que dans quelques cas nous ayons pu constater une réaction manifeste dès le sixième mois après la naissance, les enfants des cinq premières années nous ont donné de 50 à 100 p. 100 de résultats négatifs. Nous n'avons observé qu'une seule exception à cette règle dans le centre administratif du district de Malo-Derbéti, où plus des trois quarts d'enfants de cet âge (78,6 p. 100) ont présenté une réaction positive bien nette. Il ne faut pas du reste attribuer



à ce cas une bien grande importance, étant donné que nous n'avons pu examiner à cet endroit qu'un très petit nombre d'enfants, — 14 en tout. Le même fait s'est reproduit sur les enfants âgés de six à dix ans du même endroit, chez qui la proportion des réactions positives a atteint 90,5 p. 100. Le chiffre le plus élevé pour cette période de l'enfance a été observé au Bazar des Kalmouks, où 15 enfants examinés ont tous réagi d'une façon évidente. Pour le restant des steppes, les enfants de six à dix ans ont donné de 13,4 à 87,5 p. 100 de réactions positives.

Les adolescents de onze à quinze ans se rapprochent beaucoup des adultes. Le minimum des réactions positives s'est montré de 39,4 p. 100, tandis que le maximum s'est élevé à 96 p. 100.

## RÉGIONS PÉRIPHÉRIQUES DES STEPPES KALMOUKES

## Population kalmouke. — Pourcentage.

	HOMMES		FEMMES		ENFANTS 0-5 ans.		ENFANTS 6-10 ans.		ENFANTS 11-15 ans.	
	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.
Ville d'Astrakhan . . .	100,0	0 »	87,5	12,5			61,5	38,5	(*)	
Bazar des Kalmouks . .	89,4	10,6	85,7	14,3	46,0	54,0	100,0	0 »	93,3	6,7
Tiouméneka . . . . .	100,0	0 »	84,6	15,4	33,3	66,7	60,0	40,0	87,0	13,0
District de Jandiki . . .	85,5	14,5	61,3	38,7	15,8	84,2	45,6	54,4	72,8	27,2
District de Manitch . .	85,6	14,4	72,8	27,2	44,8	55,2	75,0	25,0	91,0	9,0
Partie du nord du district Malo-Derbéti. . .	96,9	13,1	84,6	15,4	20,8	79,2	76,0	24,0	96,0	4,0
Stavka des Malo-Derbéti.	86,3	13,7	86,0	14,0	78,6	21,4	90,5	9,5	92,3	7,7
Amta Bourgousta . . . .	92,0	8,0	88,8	11,2	16,7	83,3	56,2	43,8	50,0	50,0
Total. . .	89,5	10,5	75,0	25,0	30,4	69,6	62,7	37,3	83,4	16,6

(\*) Voir note de la page 794.

Parmi les adultes, dans toute l'étendue des steppes, les femmes ont réagi notablement moins souvent à la tuberculine que les hommes, et ceci à une seule exception près (à Tchilguire), où la proportion positive chez les femmes s'est montrée un peu plus élevée que chez les hommes (56,2 au lieu de 52,4

p. 100) (1). Ce fait si général indique que ce ne sont pas les conditions d'habitation qui jouent le rôle prépondérant dans la distribution de la tuberculose. Les femmes chez les Kalmouks sont chargées de tout le travail dans l'intérieur des tentes et des cabanes en terre glaise (zemliankas), tandis que les hommes, lorsqu'ils travaillent, passent beaucoup de leur temps dans les steppes ou au bord de l'eau. Aussi se trouvent-ils en communication beaucoup plus fréquente que les femmes avec la population sédentaire des Russes et des musulmans. Sous ce rapport, il est intéressant de comparer la fréquence des réactions positives à la tuberculine chez les Kalmouks qui habitent près des frontières des steppes et chez ceux qui sont cantonnés dans les districts centraux. Dans ce but, nous avons divisé nos résultats en deux parties : d'abord ceux qui ont été obtenus sur des Kalmouks vivant au milieu ou tout près des Russes, soit en ville, soit au Bazar des Kalmouks, aux bords du fleuve ou au voisinage de la frontière; et ensuite, ceux qui ont été constatés sur des Kalmouks qui habitent les deux districts les plus centraux des steppes. Le résultat de cette comparaison a été des plus nets. La réaction positive a été beaucoup plus fréquente à la périphérie que dans le centre. Tandis que dans la première un dixième seulement de la population masculine (10,5 p. 100) s'est montrée indemne de foyers tuberculeux, plus d'un tiers des habitants mâles de la région centrale (36 p. 100) n'ont pas réagi à la tuberculine. Chez les femmes, le contraste est encore plus frappant, car, à la périphérie, 75 p. 100 d'entre elles ont manifesté la réaction positive et, dans le centre, elles ne l'ont donnée que dans la proportion de 43,10 p. 100. Les enfants, depuis la naissance jusqu'à l'âge de quinze ans, confirment la même règle générale. Parmi eux, il ne s'est trouvé qu'une seule exception. Dans un pays situé dans une région des plus centrales — Tchilguire (v. la carte) — les enfants de six à dix ans ont réagi beaucoup plus fréquemment que dans tous les autres points des steppes. Cette exception n'est cependant qu'apparente, car Tchilguire se trouve dans des conditions toutes particulières. Habité en partie par

(1) Dans le nombre, il s'est trouvé quelques sujets, atteints de tuberculose pulmonaire très avancée, qui n'ont pas réagi à la tuberculine.



des Russes et en partie par des Kalmouks soi-disant orthodoxes, le contact entre les deux éléments est beaucoup plus fréquent et intime que partout ailleurs. Ces Kalmouks chrétiens, qui ont conservé leurs mœurs primitives et sont restés tout aussi ignorants que les Kalmouks bouddhistes, ont acquis le droit de se marier avec des Russes, ce qui fait que le mélange des deux sangs à Tchilguire est plus prononcé que dans n'importe quelle région des steppes. Du reste, les chiffres sur lesquels repose le pourcentage des enfants à Tchilguire ne se rapportent qu'à un nombre trop petit de sujets pour être interprétés d'une façon définitive.

## RÉGION CENTRALE DES STEPPES KALMOUKES

## Population kalmouke.

	HOMMES		FEMMES		ENFANTS 0-5 ans.		ENFANTS 6-10 ans.		ENFANTS 11-15 ans.	
	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.
Stavka du district Kharakhoussi . . . . .	31	22	29	32	4	9	13	13	17	9
Aimak Erdeni du district Kharakhoussi . . . . .	45	18	36	55	4	39	11	32	25	26
Zagan Sek, Zagan Oussoum du district Ikitzekhourï . . . . .	21	15	20	36	4	40	4	26	13	20
Stavka du district Ikitzekhourï . . . . .	43	24	40	42	7	20	13	17	30	22
Moines de 3 couvents du district Ikitzekhourï . . . . .	43	20	»	»	0	11	2	7	8	8
Kalmouks orthodoxes à Tchilguire . . . . .	11	10	7	9	4	7	7	1	11	6
Total. . . . .	194	109	132	174	20	126	50	106	104	91

La fréquence notablement plus grande des réactions positives à la périphérie des steppes s'explique le plus aisément par le contact plus fréquent des Kalmouks avec la population sédentaire. On ne peut pas la rapporter à la différence dans le genre de vie. Il est vrai que les Kalmouks de la région périphérique passent beaucoup plus souvent l'hiver dans des cabanes mal aérées et pas du tout hygiéniques que les habitants des districts centraux qui vivent toute l'année sous leurs tentes.

Mais cette condition ne doit pas avoir une grande importance, étant donné que les femmes réagissent moins souvent que les hommes, étant donné aussi le fait que les moines de la région centrale, qui passent l'hiver dans des cabanes en terre glaise, ne fournissent pas plus de réactions positives que les Kalmouks du centre, qui vivent en hiver dans leurs kibitkas.

## RÉGION CENTRALE DES STEPPEES KALMOUKES

## Population Kalmouke. — Pourcentage.

	HOMMES		FEMMES		ENFANTS 0-5 ans.		ENFANTS 6-10 ans.		ENFANTS 11-15 ans.	
	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.
Stavka du district Kharakhoussi . . . . .	58,5	41,5	47,5	52,5	10,0	90,0	50,0	50,0	65,4	34,6
Aimak Erdeni du district Kharakhoussi . . . . .	71,4	28,6	39,5	60,5	9,3	90,7	25,5	74,5	49,0	51,0
Zagan Sex, Zagan Oussoum du district Ikitzekhourï.	58,3	41,7	35,7	64,3	9,1	90,9	13,4	86,6	39,4	60,6
Stavka du district Ikitzekhourï . . . . .	64,0	36,0	48,8	51,2	26,0	74,0	32,5	67,5	37,7	42,3
Moines de 3 couvents du district Ikitzekhourï . .	68,4	31,0	»	»	0	100,0	22,3	77,7	50,0	50,0
Kalmouks orthodoxes à Tchilguire . . . . .	52,4	47,6	56,2	43,8	36,4	63,6	87,5	12,5	64,7	35,3
Total. . .	64,0	36,0	43,1	56,9	13,7	86,3	68,0	32,0	53,3	46,7

Arrivés à ce résultat que, dans l'extension de la tuberculose parmi les Kalmouks, c'est la fréquentation avec la population russe qui joue le rôle principal, il était important pour nous d'établir la proportion des réactions positives parmi les Russes et les rares musulmans qui vivent au milieu ou à côté des Kalmouks. C'est surtout dans les pays de la région périphérique, comme le Bazar des Kalmouks et les districts limitrophes des steppes, que cette cohabitation a lieu. Eh bien, dans ces endroits (ainsi que l'on peut voir sur les tableaux des p. 794 et 795) les réactions positives de la population sédentaire se montrent comparables aux chiffres donnés en Europe et accusent en général une très forte proportion. Ainsi, sur les 38 Russes et musulmans adolescents et adultes examinés au Bazar des



Kalmouks, seule une jeune fille de seize ans s'est montrée insensible à la tuberculine. En général, la quantité des réactions positives parmi ces habitants sédentaires de la périphérie des steppes s'est révélée encore plus grande que parmi les Kalmouks vivant dans les mêmes endroits.

Il est à remarquer que le petit nombre de Russes qui habitent au voisinage des Kalmouks dans la région centrale, bien qu'accusant une plus forte proportion de réactions positives que les Kalmouks des mêmes endroits, ont cependant réagi sensiblement moins souvent que les Russes de la périphérie des steppes. Il n'y a que les enfants des Russes à Tchilguire qui aient donné moins de réactions positives que les enfants des Kalmouks du même pays. Ce dernier résultat, obtenu sur un nombre insuffisant de sujets, demande une étude nouvelle avant d'être interprété.

Tout l'ensemble de nos observations confirme cette thèse que l'infection tuberculeuse parmi les Kalmouks est notablement plus fréquente à la périphérie des steppes que dans la région centrale et que c'est surtout le voisinage des habitants sédentaires qui cause la propagation du bacille de Koch chez les Kalmouks.

#### IV

Les matériaux réunis pendant notre voyage sont-ils capables d'éclairer le fait signalé au commencement de ce mémoire, à savoir que les Kalmouks adolescents qui quittent leurs steppes pour faire des études dans les villes deviennent le plus souvent tuberculeux et meurent avant de les avoir achevées, ou bien sont obligés de retourner dans leur pays natal ?

Consultons d'abord les quelques renseignements que nous avons puisés à des sources compétentes. D'après le relevé qui nous a été communiqué par l'inspecteur du pensionnat des Kalmouks à Astrakhan, dans l'espace de quarante-cinq ans (de 1865 à 1910) ont été internés dans ce pensionnat 715 élèves suivant les cours des écoles primaires et secondaires. Sur ce nombre, 75 sont morts avant d'avoir terminé leurs études, 27 ont dû quitter Astrakhan pour cause de maladie et les 613 restants ont été obligés de se contenter d'études primaires

pour retourner dans les steppes. Sur 14 étudiants d'écoles supérieures internés dans le pensionnat, dans l'espace de quatre ans (1907-1910), 4 sont tuberculeux.

Pendant les dernières années, la mortalité a diminué par rapport à la période précédente. Ainsi, d'après Khlopine (*loc. cit.*, p. 89), autrefois la mortalité des élèves des écoles d'Astrakhan atteignait 118 p. 1.000, tandis que, dans la décade 1895-1905, elle s'est abaissée au chiffre de 31,7 p. 1.000, qui correspond environ au taux de la mortalité de la ville d'Astrakhan.

RUSSES ET QUELQUES MULSUMANS HABITANT LES STEPPES KALMOUKES

	HOMMES		FEMMES		ENFANTS 0-5 ans.		ENFANTS 6-10 ans.		ENFANTS 11-15 ans.	
	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.
<b>Partie périphérique des steppes.</b>										
Bazar des Kalmouks . . .	24	0	6	1	2	2	3	1	8	0
District de Iandiki . . . .	27	1	10	1	0	4	2		8	0
District de Manitch . . . .	9	0	11	2		2 (*) 2				
Partie nord du district Malo-Derbéti . . . . .	9	0	7	0			1	1		
Stavka du district Malo- Derbéti . . . . .	16	0	15	2	2	1	2	0	5	5
Amta-Bourgousta . . . . .	5	3	5	1		1 1				
Total. . .	90	4	54	7	4	8	11	7	21	5
<b>Partie centrale des steppes.</b>										
Tchilguire. . . . .	13	8	14	6	1	8	4	4	2	6
Stavkas des districts Kha- rakhoussi et Ikitzekhourï.	12	3	7	3			7	6		
Total. . .	25	11	21	9	1	8	11	10	2	6

(\*) Voir la note p. 794.

Depuis le commencement de nos études, nous avons porté notre attention tout particulièrement sur les Kalmouks écoliers. Arrivés à Astrakhan fin mai 1911, nous nous sommes adressés



d'abord au directeur du pensionnat kalmouk dans le but de faire la réaction de la tuberculine sur les élèves. Mais, bien que l'on ne fût pas encore en vacances, la plupart de ceux-ci étaient déjà licenciés et renvoyés dans les steppes à cause de leur santé délicate. Il ne restait au pensionnat que six élèves d'écoles secondaires, considérés comme les mieux portants, sur lesquels cinq ont donné une réaction positive; le sixième, qui n'a pas réagi, se trouvant n'habiter Astrakhan que depuis un an. Plusieurs, parmi les élèves congédiés, ont pu être retrouvés dans les steppes et soumis à l'épreuve de la tuberculine. Sur 30 internes du pensionnat d'Astrakhan, 27 ont accusé une réaction positive, ce qui fait 90 p. 100, chiffre voisin de celui que présentent les Européens adultes et les Russes de la ville d'Astrakhan.

## RUSSES ET QUELQUES MUSULMANS HABITANT LES STEPPES KALMOUKES

	HOMMES		FEMMES		ENFANTS 0-5 ans.		ENFANTS 6-10 ans.		ENFANTS 11-15 ans.	
	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.	R. pos.	R. nég.
<b>Parties périphériques des steppes. Pourcentage.</b>										
Bazar des Kalmouks.	100 »	0 »	85,7	14,3	50,0	50,0	75,0	25,0	100,0	0 »
District de Iandiki. .	96,4	3,6	91,0	9,0	0,0	100,0	40,0	60,0	100,0	
District de Manitch. .	100,0	0,0	84,6	15,4			50,0	50,0		
Partie nord du district Malo-Derbéti. .	100,0	0,0	100,0	0,0			50,0	50,0		
Stavka des Malo-Derbéti . . . . .	100,0	0,0	88,0	12,0	75,0	25,0	100,0	0,0	50,0	50,0
Amta Bourgousta . .	62,5	37,5	83,3	16,7			50,0	50,0		
Total. . .	95,7	4,3	88,5	11,5	33,3	66,6	61,0	39,0	80,8	19,2
<b>Partie centrale des steppes.</b>										
Tchilguire . . . . .	62,0	38,0	70,0	30,0	11,2	88,8	50,0	50,0	25,0	75,0
Stavka des districts Kharakhoussi et Iki-Izekhour. . . . .	80,0	20,0	70,0	30,0		54,0	46,0			
Total. . .	69,4	30,6	70,0	30,0	11,2	88,8	52,4	47,6	25,0	75,0

Les élèves des écoles primaires kalmoukes situées dans les centres administratifs des districts dans les steppes, n'ont donné que 68,2 p. 100 de réactions positives (15 positives et 7 négatives sur 22 sujets), différence qui ne peut s'expliquer qu'en partie par l'âge un peu plus jeune de ces élèves par rapport aux internes du pensionnat d'Astrakhan. A ce point de vue, il est intéressant de comparer la proportion des réactions positives parmi ces internes, non seulement avec les élèves des écoles de districts, mais aussi avec ceux des écoles religieuses disséminées parmi les couvents dans les steppes, car, parmi ces élèves, on rencontre des sujets du même âge que ceux de l'internat d'Astrakhan. Or, la différence est encore plus sensible, car, sur 26 élèves monastiques, 17 seulement (65,4 p. 100) ont réagi à la tuberculine.

Il ressort de ces données que le séjour des adolescents kalmouks en ville pendant une grande partie de l'année, au milieu des écoliers russes, amène la contamination des premiers par le virus tuberculeux. Ce résultat justifie pleinement le projet des autorités russes, de créer une école secondaire pour les Kalmouks dans le centre administratif du district de Manitch, en fermant l'internat d'Astrakhan.

La comparaison du taux des réactions positives des internes de ce pensionnat, 90 p. 100, avec celui des adolescents de onze à quinze ans qui habitent le centre des steppes, 53,3 p. 100, et même avec celui des hommes adultes de cette région, 64 p. 100, peut expliquer le fait général de la fréquence de la tuberculose grave parmi les élèves de la ville. Les adolescents des steppes, restés indemnes de l'infection tuberculeuse, la contractent après un séjour plus ou moins long à Astrakhan. Cet état d'indemnité leur a donc été funeste, ce qui corrobore l'opinion des médecins qui pensent que certaines scrofules de l'enfance exercent une action protectrice contre la tuberculose pulmonaire grave.

Il est à remarquer que la tuberculose mortelle devient moins fréquente depuis quelques années parmi les Kalmouks qui font leurs études dans les villes. On compte actuellement deux médecins, deux juristes et plusieurs orientalistes ayant terminé leur instruction universitaire, ce qui ne s'est jamais vu autrefois. C'est la dissémination plus grande de l'infection



tuberculeuse dans les steppes qui a dû contribuer à ce résultat.

A ce point de vue, il faut se demander si l'isolement des enfants de parents tuberculeux, préconisé actuellement par les médecins, ne serait pas une mesure à double tranchant, car il empêcherait l'immunisation pendant les premières périodes de l'enfance. Pour éclaircir ce problème d'une si grande importance, il est nécessaire de continuer l'étude de l'épidémiologie de la tuberculose dans les conditions les plus variées et de préciser le mécanisme de l'infection par le bacille de Koch, qui amène à la réaction positive. Il doit être très utile aussi d'étudier le virus ou, probablement, les virus scrofuleux, parmi lesquels on trouverait peut-être le vaccin que l'on cherche avec tant de zèle depuis la grande découverte de Koch. Il y a là un vaste champ de recherches, dont nos observations dans les steppes kalmoukes ne représentent que le premier jalon.

Il nous reste, en terminant ce mémoire, à accomplir un devoir des plus agréables. Nous adressons nos plus vifs et sincères remerciements à toutes les autorités du gouvernement d'Astrakhan, pour le concours précieux qu'elles n'ont cessé de nous prodiguer.

Notre gratitude va, en premier lieu, à M. le gouverneur d'Astrakhan, général Sokolowski. Si notre enquête a pu être en peu de temps assez fructueuse, nous en sommes redevables, non seulement à l'aide matérielle qu'il nous a donnée, avec une générosité sans bornes, pour les voyages dans les steppes, mais encore et surtout aux sentiments de sympathie que son administration a conquis dans la population kalmouke.

Le prestige de l'autorité, une organisation parfaite, les largesses de l'hospitalité russe, toutes les prévenances et toute la bonne grâce possibles, mis au service d'une enquête scientifique, voilà ce que nous avons reçu de M. le général Sokolowski.

En la personne de M. Kosine, le distingué chef de l'administration des Kalmouks, nous remercions tous les administrateurs qui nous ont guidés et accompagnés, et nous remercions tous les médecins des steppes, russes et kalmouks, en la personne de leur chef si dévoué et sympathique, M. le Dr Zalkind. Nous souhaitons qu'il leur reste comme à nous, de cette collaboration, le meilleur souvenir.

## [APPENDICE]

D'APRÈS UNE NOTE DE M. LE D<sup>r</sup> ZALKIND (D'ASTRAKHAN)  
SUR LES ÉCOLIERS KALMOUKS TRANSPLANTÉS DES STEPPES A ASTRAKHAN

Notre article était déjà imprimé lorsque nous avons reçu une communication du D<sup>r</sup> Zalkind, dont nous donnons ici un bref résumé, étant donné son vif intérêt. Profitant de la rentrée d'octobre des écoliers kalmouks, de retour de leurs steppes à Astrakhan, M. Zalkind les a tous soumis à la réaction de von Pirquet.

Sur un ensemble de 53 élèves, 16 venaient d'arriver tout récemment à Astrakhan pour commencer leurs études. Agés de onze à quinze ans, et tous bien portants, 8 d'entre eux n'ont pas réagi à la tuberculine, tandis que 8 autres ont réagi, bien que faiblement.

Sur les 37 élèves ayant séjourné plus d'un an à Astrakhan, un seulement, un garçon de quatorze ans, n'a pas manifesté de réaction, tandis que les 36 autres ont tous réagi, souvent même (dans 13 cas) à un degré considérable. La plupart de ces écoliers (22) étaient âgés de douze à quinze ans; parmi les 15 autres, 3 ont atteint leur vingtième année.

Un des élèves des plus âgés (dix-huit ans) a dû, bientôt après son arrivée en ville, retourner dans les steppes pour cause d'anémie accompagnée de toux. Chez 3 autres (âgés de dix-neuf, dix-neuf et vingt ans) le D<sup>r</sup> Zalkind a trouvé des bacilles tuberculeux dans les crachats. Atteints de toux, ils sont sans doute destinés à ne pas terminer leurs études.

Les faits constatés par le D<sup>r</sup> Zalkind corroborent les résultats de nos observations et montrent une fois de plus l'action funeste du voisinage des tuberculeux sur les adolescents indemnes arrivant des steppes en ville. Il est facile à prévoir que les 8 élèves arrivés à Astrakhan sans être contaminés ne tarderont pas à le devenir auprès de leurs camarades plus anciens. On voit donc bien l'utilité déjà signalée dans notre article du transfert de l'internat kalmouk dans les steppes.

Les observations du D<sup>r</sup> Zalkind montrent une fois de plus que la tuberculose ne se contracte pas seulement dans la première enfance, mais que la contagion peut frapper les sujets neufs de tout âge. C'est une constatation que l'on ne peut guère faire avec cette netteté que dans les pays où entrent en contact une population tuberculisée et une population neuve.



# ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA POLIOMYÉLITE AIGÜE

(MALADIE DE HEINE-MEDIN)

SECOND MÉMOIRE

par K. LANDSTEINER (Vienne) et C. LEVADITI (Paris),  
en collaboration avec M. PASTIA (Bucarest).

Depuis la publication de notre mémoire sur l'étude expérimentale de la poliomyélite (1), nous avons continué nos recherches et nous avons établi un certain nombre de faits que nous désirons exposer dans le présent travail. Nos nouvelles expériences concernent, entre autres, la genèse des lésions au début de la maladie, quelques propriétés du virus, les relations entre le germe de la poliomyélite et celui de la rage, la conservation du virus dans le lait et l'eau, les voies de pénétration et d'élimination, la vaccination active, etc. Nous consacrerons un chapitre spécial à chacune de ces questions.

## 1. LA GENÈSE DES LÉSIONS AU DÉBUT DE LA MALADIE.

Nos premières recherches sur ce sujet, exposées antérieurement, avaient pour but la précision du moment où débutent les lésions inflammatoires et dégénératives qui caractérisent la maladie de Heine-Medin. Quatre *Mac. cynomolgus* furent infectés le même jour; un servit comme témoin et montra des troubles paralytiques (*paralysie faciale*) après une incubation de onze jours; les autres furent sacrifiés le *deuxième*, le *quatrième* et le *septième* jour. Or, tandis que chez le témoin, l'examen microscopique de la moelle épinière révéla des lésions typiques de poliomyélite, ces lésions étaient absentes chez les animaux sacrifiés au cours de la période d'incubation. Ces essais préliminaires paraissaient ainsi montrer que « les

(1) LANDSTEINER et LEVADITI, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1910, t. XXIV, p. 833.

lésions font leur apparition à un moment très rapproché de l'éclosion des troubles paralytiques ».

Depuis, nous avons continué ces recherches et nous avons entrepris deux séries d'expériences disposées de la même manière.

Exp. A. — Cinq *Mac. cynomolgus*, n<sup>os</sup> 63 à 67, sont infectés par voie cérébrale (0 c.c. 5) et péritonéale (1 c.c. 5) le 14 novembre 1910. Un d'eux, le n<sup>o</sup> 63, sert comme témoin; il se paralyse le 18 novembre (*Incub.* de quatre jours) et meurt le lendemain. L'examen de la moelle montre des altérations de poliomyélite (hémorragies, infiltration discrète autour des vaisseaux, lésions dégénératives des cellules nerveuses). Les autres singes sont sacrifiés le deuxième, le troisième, le quatrième et le cinquième jour. Or, le *Cynomolgus* n<sup>o</sup> 67, tué le quatrième jour, à un moment où l'examen clinique ne révélait aucun signe de paralysie bien apparente, était porteur de lésions nettes de la moelle cervicale, du bulbe et de la protubérance. Il s'agissait de foyers inflammatoires péri-vasculaires, de phénomènes de neuronophagie et de signes d'irritation méningée. Pas d'altérations de la substance grise et blanche de la moelle chez les autres animaux.

Exp. B. — Le 14 mars 1911, on injecte par voie cérébrale et péritonéale deux *Mac. cynomolgus* n<sup>os</sup> 1 et 2, et deux *Cynoceph. hamadryas* n<sup>os</sup> 1 et 2. Le *Cynomolgus* n<sup>o</sup> 1 meurt le 17 mars, le *Cynomolgus* n<sup>o</sup> 2 se paralyse le 17 mars (*Incub.* de trois jours) et est sacrifié le lendemain (paralysie complète des quatre extrémités). L'examen histologique du système nerveux montre des lésions typiques chez les deux animaux. Le *Cynocephalus hamadryas* n<sup>o</sup> 1 est pris de tremblements; on le sacrifie dès l'apparition de ce premier signe de la poliomyélite. Voici le résultat de l'examen des centres nerveux :

*Moelle cervicale.* — Pas d'infiltration des méninges, sauf au voisinage immédiat du septum antérieur, où on décèle une accumulation de cellules migratrices. L'examen montre, en outre, des manchons cellulaires épais autour des vaisseaux de la substance grise, manchons qui sont moins marqués dans la substance blanche. L'infiltration est constituée surtout par des leucocytes polynucléaires; dans le protoplasma de certaines cellules rondes on découvre des granulations colorées en bleu (destruction partielle des noyaux?).

Parmi les cellules nerveuses, il y en a qui montrent une rétraction du protoplasma, avec formation d'un espace vide autour de l'élément cellulaire; le corps protoplasmique se colore d'une façon intense, est grossièrement granuleux et on y révèle une destruction plus ou moins marquée des corpuscules de Nissl. Souvent, on constate un envahissement de la cellule nerveuse par des éléments leucocytaires et peut-être aussi une prolifération des cellules névrogliques qui l'entourent. Ça et là, on décèle la présence de quelques leucocytes dans les espaces péri-cellulaires mentionnés plus haut, ce qui prouve que ces espaces ne sont pas tous des artifices de préparation. En outre, on observe des foyers d'infiltration en pleine substance grise, renfermant des globules blancs éosinophiles. Ces foyers sont, par endroits, disposés autour des cellules nerveuses, dont le protoplasma est envahi par des leucocytes.

*Moelle dorsale.* — Au niveau du segment dorsal de la moelle épinière, les lésions sont moins intenses. On remarque des infiltrations péri-vasculaires accentuées seulement dans la substance grise; quant aux altérations inflammatoires du septum antérieur, elles sont peu marquées.

*Moelle lombaire.* — Ce segment médullaire ne semble pas lésé; par contre, on découvre quelques lésions inflammatoires dans le *bulbe*.

*Cynocephalus hamadryas* n° 2 fut sacrifié à un moment où il paraissait commencer à être malade; il présentait, en effet, quelques traces d'agitation et de tremblement. L'examen de sa moelle ne révéla pas de lésions d'infiltration péri-vasculaire; seules les cellules nerveuses offraient quelques modifications. Sur les coupes colorées au Nissl, on constatait une destruction partielle et une irrégularité de forme de la substance tyroïde.

Quelles sont les conclusions qui découlent de ces données? Disons tout de suite que la réalisation de pareilles expériences, dans des conditions idéales, est entourée de difficultés. Il est le plus souvent impossible de préciser d'avance la date exacte de l'éclosion des phénomènes morbides, la période d'incubation variant sensiblement, non seulement suivant l'activité du virus à un moment donné, mais aussi d'après la réceptivité des espèces simiennes et des divers singes appartenant à la même espèce. Ainsi, si le témoin contracte la poliomyélite après cinq jours, par exemple, on ne peut savoir si les autres singes commenceront à être malades le même jour, avant, ou après cette date. Malgré ces écueils, nous avons réalisé trois fois des expériences qui se rapprochent assez du but. Or, nous voyons que chez deux de nos singes sacrifiés avant l'apparition des paralysies (*Cynomolgus* n° 67 et *Cynoc. hamadryas* n° 1), le système nerveux central était le siège d'altérations dont l'intensité nous semble dépasser celle que l'on ait pu prévoir d'après les quelques troubles de début (tremblements) constatés chez l'un d'eux (*Cynoceph. ham.* n° 1). On peut donc conclure que, du moins dans quelques cas, le *nevraxe* subit des modifications inflammatoires et dégénératives quelque temps déjà avant l'apparition des paralysies. Toutefois, il nous paraît que la genèse de ces modifications ne précède pas de beaucoup l'éclosion des phénomènes paralytiques, et qu'elle coïncide plutôt avec la période prémonitoire d'agitation et de tremblement; en effet, nous avons révélé une intégrité parfaite du système nerveux central chez certains animaux sacrifiés avant cette période et, d'un autre côté, il n'y avait pas d'inflammation péri-vasculaire chez un de nos simiens (*Cynoceph. hama-*



*dryas* n° 2) tué au moment où il paraissait présenter des traces de tremblement.

Reste à savoir comment débutent les lésions de la poliomyélite, quel est le constituant du système nerveux central (méninges, vaisseaux et parenchyme de la substance grise, vaisseaux des cordons médullaires) qui subit le premier l'influence du virus? Chez certains des singes de la première série d'expériences, nous avons bien constaté une légère réaction mononucléaire autour des vaisseaux des méninges médullaires et bulbaires; il nous est cependant impossible de préciser si ces lésions sont dues à l'action directe du virus, ou bien à l'irritation provoquée par l'injection intra-cérébrale d'une assez grande quantité de liquide. Par contre, nos constatations concernant le *Cynocephalus* n° 1 prouvent d'une façon indubitable que les altérations bulbo-médullaires peuvent naître et évoluer sans la participation primitive des méninges. On voit sur les coupes de moelle cervicale que, chez ce singe, l'inflammation des méninges a eu, comme point de départ, celle qui intéresse le septum antérieur et qu'elle s'est propagée, par conséquent, de l'intérieur vers la surface; de plus, l'examen du segment dorsal, le moins atteint, montre que les lésions ont envahi le septum antérieur, se propageant le long des vaisseaux de la moelle. Il semble donc très probable que les modifications anatomo-pathologiques qui caractérisent la maladie de Heine-Medin débutent dans la substance grise de l'axe cérébro-spinal. Sont-ce les vaisseaux, ou le tissu interstitiel de la substance grise, ou encore les cellules nerveuses qui réagissent tout d'abord à l'action inflammatoire et dégénérative du virus? Nous ne saurons l'affirmer d'une façon bien certaine, quoique les constatations se rapportant aux expériences qui précèdent et aussi nos recherches sur l'anatomie pathologique de la poliomyélite (1), nous font incliner plutôt vers la dernière de ces hypothèses.

Nous venons de voir, d'ailleurs, que chez un de nos animaux (*Cynoceph. hamadryas* n° 2) les cellules nerveuses étaient le siège de modifications appréciables, alors que les vaisseaux de la substance grise et blanche paraissaient nor-

(1) Voir notre précédent mémoire.

maux. Etant donné cependant que parfois il est difficile de préciser jusqu'à quel point les altérations du protoplasma des cellules nerveuses et la fonte des granulations de Nissl sont dues à des artifices de préparation (insuffisance des fixateurs), une certaine réserve s'impose à ce sujet (Cf. Leiner et Wiesner). A part cette restriction, les modifications très prononcées des cellules pyramidales, leur envahissement par les éléments migrateurs, la neuronophagie et la neuronolyse qui s'ensuivent et qui déterminent la résorption complète de ces cellules, tout cela pouvant coexister avec des lésions à peine marquées des vaisseaux, sont autant d'arguments qui plaident en faveur de *l'action directe du virus sur les cellules ganglionnaires*.

## 2. RÉSISTANCE DU VIRUS.

a) *Dessiccation*. — Nous avons montré dans notre précédent mémoire que le virus de la poliomyélite, desséché dans le vide sur de l'acide sulfurique, conservait son activité pendant quinze jours au moins. Nous avons repris l'étude de cette question, dont l'importance est incontestable au point de vue du mode de transmission de la maladie de Heine-Medin. Les constatations récentes de Flexner et Lewis (1), de Landsteiner et Levaditi (2) ont rendu très probable l'hypothèse de la pénétration du virus par la voie naso-pharyngée et son élimination par les sécrétions de la muqueuse du nez et de la gorge. Cette notion de la présence du microbe dans le mucus nasal, fort plausible, sinon démontrée, pose donc le problème de la propagation de l'infection par les mucosités naso-pharyngées contaminées et desséchées. Or, nos expériences montrent, à ce propos, que *le virus, préalablement soumis à une dessiccation aussi rapide que complète, peut conserver son activité pathogène pendant un temps assez long*.

EXPÉRIENCE. — Une émulsion de moelle virulente est étalée en couche mince dans une boîte de Petri, puis desséchée rapidement dans le vide sur

(1) FLEXNER et LEWIS, *The Journ. of the Americ. medic. Assoc.*, 1910, 12 février.

(2) LANDSTEINER, LEVADITI et PASTIA, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1911, t. CLII, p. 1704, 12 juin.

du  $P^2O^5$ . Après *vingt-quatre jours* de conservation à l'état de dessiccation parfaite, on suspend la poudre dans de l'eau salée isotonique et on l'injecte dans le cerveau du :

*Macacus rhesus* n° 1. L'animal se paralyse après une incubation de *six jours*; il montre une paralysie des membres inférieurs et du ptosis. On le sacrifie sept jours après l'éclosion des phénomènes paralytiques, et l'examen microscopique montre des lésions typiques de poliomyélite.

Il en résulte que *le virus, parfaitement desséché et conservé en présence de  $P^2O^5$ , garde sa virulence au moins pendant vingt-quatre jours* (Cf. Rømer et Joseph) (1).

b) *Glycérine*. — Nos expériences antérieures ont démontré la conservation de l'activité pathogène pendant vingt-deux jours, lorsque le virus est mis en contact avec de la glycérine diluée au tiers avec de l'eau salée isotonique (temp. de la glacière). D'après Rømer (2), qui a confirmé cette constatation, la conservation peut être prolongée pendant cinq mois, sans inconvénient appréciable pour la virulence. Ayant repris nos recherches après les vacances de 1910, nous nous sommes servis de fragments de moelle ayant séjourné dans de la glycérine, à la glacière, du 3 avril au 22 octobre, soit 202 jours. Ces fragments se sont montrés parfaitement actifs, en injection intracérébrale et intrapéritonéale, comme il résulte de l'expérience suivante :

On se sert de la moelle du *rhesus* n° 70, injecté le 21 mars 1910, paralysé le 30 mars et sacrifié le 3 avril. Le 22 octobre, on s'en sert pour préparer une émulsion aqueuse que l'on inocule dans le cerveau (0 c. c. 5) du :

*Macacus cynomolgus* n° 7. Le 30 octobre (*Incub. de huit jours*) : Paralysie généralisée d'emblée. L'animal est sacrifié le lendemain ; le passage fait avec sa moelle confère la poliomyélite.

*Le virus se montre donc actif après au moins 202 jours de conservation dans de la glycérine, à la température de la glacière.*

c) *Conservation du virus dans l'eau et le lait*. — Les recherches expérimentales de Leiner et Wiesner (3) ont montré que la transmission de la poliomyélite par le tube digestif est pos-

(1) RØMER et JOSEPH, *Münch. med. Woch.*, 1910, n° 48.

(2) RØMER, *Die epidemische Kinderlähmung*. Berlin, Springer, 1911.

(3) LEINER, WIESNER et ZAPPERT, *Studien ueber die Heine-Medinschen Krankheit* Leipzig und Wien, Deuticke, 1911.



sible, quoique, d'après nos propres expériences, assez inconstante. D'un autre côté, Wickman (1), s'appuyant sur des données épidémiologiques, admet que la maladie pourrait se propager par l'intermédiaire de certaines matières alimentaires, en particulier le lait. Il était donc tout indiqué de rechercher si le virus se conserve dans le lait et l'eau, et combien de temps il garde intacte son activité dans ces conditions. Nous avons entrepris quelques expériences dans cette voie et nous sommes arrivés à des conclusions qui nous paraissent intéressantes.

EXPÉRIENCE. — Le 13 mars 1911, on soumet à 100 degrés, pendant dix minutes (autoclave), plusieurs tubes à essai contenant chacun 10 centimètres cubes de lait; on chauffe à la même température d'autres tubes renfermant de l'eau ordinaire. Après refroidissement, on introduit dans chaque tube 1 centimètre cube d'une émulsion de moelle virulente préparée le jour même. Les tubes, bouchés au coton, sont conservés à la température de la chambre et à la lumière. On essaie la virulence au début de l'expérience, le troisième, le seizième et le trente et unième jour.

LAIT. — *Premier essai, sitôt le mélange préparé.* *Mac. rhesus* n° 79, reçoit dans le cerveau (0 c. c. 25) et le péritoine (1 c. c. 75) le mélange de lait et de virus le 13 mars 1911. Le 20 mars (*Incub. de sept jours*), agitation; le 21, tremblements généralisés, paralysie du bras droit; le 22, paralysie généralisée. L'animal est sacrifié; *examen histologique positif*.

*Deuxième essai, après trois jours de conservation.* *Mac. cynomolgus* n° 97, infecté comme le précédent le 16 mars. Le 21 mars (*Incub. de cinq jours*); l'animal paraît malade; le 22, paralysie à type supérieur; le 23, il est presque mourant, on le sacrifie. *Lésions typiques de poliomyélite*.

*Troisième essai, après seize jours de conservation.* *Mac. rhesus* n° 0 est inoculé comme le précédent le 28 mars. Le 4<sup>er</sup> avril (*Incub. de quatre jours*), l'animal est abattu, hésite à sauter. Le 2 avril, parésie des muscles du bras et de la nuque, plus accentuée à gauche. On le trouve mort le 3 avril. *Lésions histologiques typiques*.

*Quatrième essai, après trente et un jours de conservation.* *Mac. sinicus* n° 55, est inoculé comme le précédent le 14 avril. Le 22 avril (*Incub. de huit jours*), parésie des deux membres gauches. Le lendemain, paralysie généralisée. L'animal reste couché. Presque mourant le 24 avril, on le sacrifie. *Lésions périvasculaires dans la moelle cervicale*.

De plus, après *vingt-cinq jours* de séjour à la température de la chambre, nous avons introduit VI gouttes du mélange lait + virus dans 10 cent. cubes de lait stérilisé. Le 14 avril, soit *sept jours* après l'ensemencement, nous avons de nouveau éprouvé la virulence.

*Mac. sinicus* n° 57 reçoit le 14 avril dans le cerveau (0 c. c. 5) et le péritoine (0 c. c. 7) du premier ensemencement sur du lait. Le 10 mai (*Incub. de vingt-sept jours*), l'animal paraît malade, hésite à sauter. Le 19 mai (*après trente-*

(1) WICKMAN. *Beitr. zur Kenntniss der Heine-Medinschen Krankheit*. Berlin, Karger, 1907.

six jours), paraplégie complète. Meurt le lendemain. A l'examen microscopique, on constate des lésions périvasculaires dans les segments cervical et lombaire de la moelle et des foyers hémorragiques dans la moelle lombaire.

EAU. Le mélange d'eau et de virus est gardé à la température de la chambre du 13 mars au 14 avril, soit *trente et un jours*. On en injecte alors 0 c. c. 25 dans le cerveau et 1 c. c. 4 dans le péritoine du :

*Mac. sinicus* n° 58. Le 24 avril (*Incub. de dix jours*), faible parésie de la patte droite; le 26, paralysie généralisée; on le trouve mort le 28 avril. Examen microscopique : *lésions typiques*.

Ces expériences montrent que *le virus, mélangé à du lait stérilisé et conservé à la température de la chambre et à la lumière, garde son activité pathogène pendant au moins trente et un jours. Il se comporte de la même façon lorsqu'on le mélange avec de l'eau ordinaire stérilisée*. Un premier passage, fait également dans du lait, après vingt-cinq jours, s'est montré actif pour le singe. Toutefois, nous ne pensons pas qu'il y eut, dans ces conditions, une véritable culture. En effet, l'incubation a été exceptionnellement longue (*vingt-sept jours*) et l'animal est paralysé trente-six jours après l'inoculation, ce qui plaide plutôt contre la multiplication du virus dans le lait.

Nous attirons particulièrement l'attention sur la durée de la période d'incubation chez le *Mac. sinicus* n° 57, laquelle a été de *vingt-sept jours* et a dépassé sensiblement les incubations les plus longues constatées par nous jusqu'à présent.

Nous avons également recherché si la conservation du virus dans du lait ne se faisait pas mieux à la température du thermostat (37°) qu'à celle de la chambre et si, dans ces conditions, il n'y avait pas une pullulation réelle du microbe filtrant de la poliomyélite. L'expérience nous a montré que le virus paraît *perdre assez rapidement son pouvoir pathogène à cette température*.

Le 28 avril, on mélange à volumes égaux du lait stérilisé et du virus filtré sur bougie Berkefeld. Le mélange est introduit dans un gros tube à essai, contenant une épaisse couche de gélose sucrée. Un premier essai, fait au moment même de l'ensemencement, montre que le mélange est actif pour le singe en injection cérébrale.

*Mac. sinicus* n° 67, inoculé le 28 avril. Le 8 mai (*Incub. de onze jours*), l'animal paraît malade, hésite à sauter, titube. On le trouve mort le lendemain. Examen histologique : *lésions péri-vasculaires, surtout au niveau des segments supérieurs de la moelle*.

Le tube contenant le lait ensemencé reste à l'étuve pendant *onze jours*. A

ce moment le lait n'est pas coagulé et ne contient pas de bactéries. On essaye sa virulence en l'injectant dans le cerveau (0 c. c. 5) du *Mac. cynomolgus* n° 77, lequel survit sans avoir présenté de troubles apparents.

### 3. ACTION DE LA BILE ET DU CERVEAU SUR LE VIRUS DE LA POLIOMYÉLITE.

Etant donné que les sels biliaires détruisent *in vitro* certains virus filtrants [Cf. les constatations de Kraus (1), v. Eisler (2) sur le virus de la rage; Cf. également les travaux de Russ (3), Rogers (4), Neufeld et Prowazek (5)], nous avons recherché si *la bile des singes neufs ou des simiens sacrifiés en pleine évolution de la poliomyélite exerce quelque influence atténuante sur le microbe de la maladie de Heine-Medin.*

EXPÉRIENCE. — Le 13 mars, on recueille aseptiquement la bile d'un *Macacus rhesus* neuf et d'un *rhesus* infecté et sacrifié deux jours après l'éclosion des phénomènes paralytiques. On prépare les mélanges suivants :

- 1° Un c. c. *virus frais*, filtré sur papier + 0 c. c. 5 *bile de singe neuf*.  
+ 3 c. c. eau salée.
- 2° Un c. c. *virus frais*, filtré sur papier + 0 c. c. 5 *bile de singe infecté*.  
+ 3 c. c. eau salée.
- 3° Un c. c. *virus frais*, filtré sur papier + 5 c. c. *eau salée* (témoin).

Les mélanges sont gardés quatre heures à la température de la chambre et dix heures à celle de la glacière. Le 14 mars, on inocule :

1° *Macacus sinicus* n° 42, reçoit le mélange *virus + bile de singe infecté* (0,25 cerveau et 1,0 péritoine); cinq minutes après l'injection, convulsions toniques et cloniques du côté gauche (l'injection intracérébrale a été pratiquée dans l'hémisphère droit), salivation abondante. Même état le soir. Le lendemain, l'animal est couché et respire à peine; il meurt le 16 mars.

*Nécropsie* : Hémorragie méningée, épanchement hémorragique dans les ventricules et au niveau des tubercules quadrijumeaux. Moelle congestionnée. A l'examen microscopique, foyers hémorragiques surtout dans la moelle, avec légères infiltrations péri-vasculaires. *Pas de lésions typiques de poliomyélite.*

2° *Macacus sinicus* n° 43, reçoit le mélange *virus + bile de singe neuf*. Pas de troubles après l'injection. Le 22 mars (*Incub. de huit jours*), tremblements, paralysie des membres inférieurs. Paralysie généralisée le 23 mars; on sacrifie l'animal qui, est mourant, vers le soir. Examen de la moelle : *lésions typiques.*

3° *Macacus sinicus* n° 44, reçoit le mélange témoin *virus + eau salée*. Le 19 mars (*Incub. de cinq jours*), tremblements généralisés, agitation. Le 21 mars, paralysie généralisée.

(1) KRAUS, *Zeitschr. f. Hyg.*, 1900, vol. XXXIV, p. 31.

(2) v. EISLER, *Centr. für Bakt.*, 1908, vol. XLV, p. 71.

(3) RUSS, *Arch. für Hyg.*, 1906, vol. LIX, p. 306.

(4) ROGERS, *Zeitschr. für Hyg.*, 1900, vol. XXXV, p. 59.

(5) NEUFELD et PROWAZEK, *Arch. Kaiserl. Gesundheitsamte*, 1907, vol. XXV, p. 504.



Le singe qui a reçu le mélange de bile d'animal infecté et de virus, étant mort très probablement par suite de l'action toxique de la bile injectée dans le cerveau, on ne peut rien conclure quant à l'action microbicide de la sécrétion biliaire des simiens sacrifiés en pleine évolution de la maladie. Il n'en fut pas de même du *Macacus sinicus* n° 43, lequel a bien supporté l'injection intracrânienne de bile normale. Or, l'animal a contracté la poliomyélite après une incubation de huit jours et s'est comporté, à peu de choses près, comme le témoin, ce qui prouve que, dans les conditions où nous sommes placés, *la bile normale ne paraît pas exercer une action stérilisante bien manifeste sur le virus de la poliomyélite.*

Des recherches analogues ont été réalisées par Leiner et Wiesner(1). Les auteurs se sont servis de bile normale d'homme et de singe, et aussi de bile provenant de deux simiens paralysés; ils ont constaté comme nous que la sécrétion biliaire des animaux neufs ne détruit pas *in vitro* le virus, tandis qu'il y a eu survie des singes qui ont reçu le mélange contenant la bile des animaux poliomyélitiques. Les auteurs reconnaissent cependant que leurs expériences sont trop peu nombreuses pour que l'on puisse admettre d'ores et déjà la présence d'anticorps microbicides dans la sécrétion biliaire des animaux malades.

Nous avons essayé de préciser si la substance nerveuse des singes neufs ou des simiens sacrifiés en pleine évolution de la poliomyélite contient des substances capables de neutraliser *in vitro* le virus. L'idée de rechercher cette propriété neutralisante des centres nerveux nous a été suggérée par l'observation suivante : au cours de nos nombreux passages faits de singe à singe, nous avons constaté que, de temps à autre, sans savoir pourquoi, le pouvoir pathogène de l'émulsion nerveuse, préparée toujours dans les mêmes conditions, faiblissait au point que l'inconstance des résultats positifs rendait parfois impossible la continuation des expériences. Nous étions alors obligés de revenir en arrière et de recommencer nos séries avec du virus conservé dans de la glycérine à la glacière. Nous avons pensé

(1) ZAPPERT, WIESNER et LEINER, Studien über die Heine-Medinsche Krankheit (*Poliomyelitis acuta*). Leipzig und Wien, Deuticke, p. 168.

que cette atténuation pouvait bien être due à l'apparition, dans les centres nerveux des animaux malades, de quelque principe (anticorps?) jouissant de propriétés microbicides. Cette hypothèse était d'ailleurs d'accord avec cet autre fait observé par Leiner et Wiesner, à savoir que les émulsions nerveuses fortement concentrées, paraissent moins actives que les émulsions diluées (sans dépasser une certaine limite, bien entendu). Les résultats que nous avons enregistrés n'ont pas confirmé notre supposition, ainsi qu'il résulte de l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE. — Le 14 mars 1911, on sacrifie un singe neuf (*rhesus*) et un *Mac. rhesus* F, paralysé depuis deux jours. Le cerveau et la moelle sont triturés dans l'appareil de Latapie, émulsionnés avec de l'eau salée et centrifugés légèrement, de façon à ce qu'on élimine les gros grumeaux. On chauffe à 60 degrés pendant une heure les deux émulsions N et I (normale et virulente; on a chauffé ainsi à une température qui détruit le virus, tout en respectant habituellement les anticorps). On prépare alors les mélanges suivants :

- 1° Un c. c. *virus frais* + 4 c. c. *émulsion I* (cerveau et moelle infectés).
- 2° Un c. c. — + 4 c. c. *émulsion N* (cerveau et moelle normaux).

On laisse séjourner les mélanges trois heures à la température de la chambre et pendant la nuit à celle de la glacière. On injecte le 15 mars :

1° *Mac. rhesus* n° 74 (cerveau et péritoine) : mélange de virus + émulsion I. Le 24 mars (*Incub. de neuf jours*), l'animal paraît abattu et hésite à sauter; le lendemain légère, parésie; paralysie complète du train postérieur le 26 mars. Le même état dure jusqu'au 30 mars, et le 31, le singe, qui est complètement immobile, est sacrifié. *Lésions inflammatoires et dégénératives du système nerveux.*

2° *Mac. Rhesus* n° 63, reçoit par la même voie le mélange de virus + émulsion N. Malade le 3 avril, paralysie passagère; survit.

La matière nerveuse, qu'elle provienne d'un singe neuf ou d'un animal infecté, n'a donc exercé aucune action neutralisante bien nette à l'égard du germe de la poliomyélite. La longue durée de la période d'incubation chez le *rhesus* n° 63 (19 jours) peut s'expliquer, en effet, par une atténuation spontanée du virus pendant son séjour en dehors de l'organisme, avant l'injection. Ces résultats sont, d'ailleurs, d'accord avec ceux de Leiner et Wiesner (1); ces auteurs n'ont obtenu qu'un retard de quatre et cinq jours dans l'éclosion des phénomènes paralytiques, en ajoutant du cerveau de lapin au virus actif, et

(1) Nous passons sous silence plusieurs autres expériences faites avec la substance nerveuse normale, et qui ont abouti à des résultats analogues.

n'ont enregistré aucune action neutralisante dans des expériences faites avec de la *lécithine* fraîche, émulsionnée dans de l'eau salée (10 p. 100).

De nouvelles recherches sont donc nécessaires pour expliquer les faits auxquels nous faisons allusion plus haut.

#### 4. RAPPORTS ENTRE LE VIRUS DE LA POLIOMYÉLITE ET CELUI DE LA RAGE.

Les analogies entre la poliomyélite et la rage sont des plus frappantes et ont attiré l'attention des observateurs dès le début des recherches sur la maladie de Heine-Medin. Ces analogies sont devenues encore plus étroites, lorsque l'expérimentation sur le singe mit en évidence la filtrabilité du virus de la paralysie infantile, sa propagation le long de nerfs, l'évolution des lésions histopathologiques, etc. Nous nous sommes donc proposé d'entreprendre une étude comparative des deux germes filtrants, celui de la poliomyélite et celui de la rage, et, déjà dans notre premier mémoire, nous avons montré que *les singes qui jouissent d'une immunité marquée à l'égard du virus de la paralysie infantile, se montrent sensibles à la rage, puisqu'ils contractent cette infection aussi facilement que les témoins.*

Nous avons continué ces recherches et nous avons examiné :

1° *Comment se comportent, à l'égard de l'infection par le virus de la poliomyélite, les animaux qui ont subi un traitement anti-rabique préventif, et*

2° *Comment agit l'immun-sérum anti-poliomyélitique sur le virus rabique, et réciproquement.*

Voici les expériences qui se rapportent à ce sujet :

Exp. 1. — Deux *Mac. rhesus*, nos 75 et 76, sont soumis au traitement anti-rabique avec les moelles qui servent au service anti-rabique de l'Institut Pasteur. Ils reçoivent sous la peau 2 centimètres cubes d'émulsion. (Voy. tableau, page 817.)

Le 20 décembre 1910, soit 7 jours après la dernière injection, on essaye la sensibilité vis-à-vis de la rage. Inoculation intra-oculaire de virus rabique de passage.

*Rhesus* n° 75. Le 3 janvier (*Incub. de 14 jours*), l'animal paraît malade, tremble. Le lendemain, paralysie généralisée, couché. Mourant le 6 janvier, on le sacrifie.



*Rhesus n° 76. Survit sans avoir été malade.*

Il en résulte que malgré la vaccination anti-rabique, un des deux singes a contracté la rage; *seul le 76 a résisté*. Le 14 février, on essaye la réceptivité de ce dernier vis-à-vis du virus de la poliomyélite (*virus F*); le *Rhesus n° 67* sert comme *témoin*.

SINGES	NOVEMBRE														DÉCEMBRE																
	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	1 <sup>er</sup>	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17		
	Moelle de (en jours) :														Moelle de (en jours) :																
Rhesus 75.	14	14	12	10	7	6	5	5	4	3	5	5	4	1	3	3	5	4	3	2	2	5	4	4	3	3	5	4	3	5	
	et	et	et	et	et																										
	13	11	9	8																											
Rhesus 76.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

*Mac. rhesus n° 76 (vacciné contre la rage, essayé avec le virus poliomyélitique F). Le 21 février (Incub. de 7 jours), paraplégie presque complète, parésie des membres supérieurs; le lendemain, paraplégie, raideur de la nuque. Le 26 février, paralysie généralisée.*

*Mac. rhesus n° 67, témoin. Le 20 février (Incub. de 6 jours), paraplégie d'emblée presque complète. Le 23 février, paralysie généralisée. Meurt le 27 février. Lésions histologiques typiques.*

Il en résulte que *la vaccination anti-rabique ne confère pas l'immunité contre la poliomyélite.*

Exp. 2. — *Mac. sinicus n° 49* est soumis au traitement anti-rabique du 11 avril 1911 au 7 mai; il reçoit du *virus frais (du jour même)* les 3, 5 et 7 mai.

SINGE	AVRIL																														MAI			
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	1 <sup>er</sup>	3	5	7										
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—										
Moelle de (en jours) :																										Moelle de (en j.) :								
Sinicus 49.	14	12	10	8	6	6	5	4	3	5	5	4	4	3	3	5	4	3	2	2	2	Frais.	Frais.	Frais.										
	et	et	et	et																														
	13	11	9	7																														

Le 13 mai, on essaye la sensibilité à l'égard du *virus poliomyélitique F*. Le *Mac. sinicus n° 56* sert comme témoin.

*Mac. sinicus n° 49 (vacc. contre la rage). Le 2 juin (Incub. de 20 jours), paralysie des membres inférieurs. Meurt le lendemain. Lésions typiques.*

*Mac. sinicus n° 56 (témoin). Le 22 mai (Incub. de 9 jours), faible parésie des*

pattes, tremblements. Le 23, paralysie complète des membres supérieurs et des muscles de la nuque, parésie des membres inférieurs. Meurt le 24 mai. *Lésions typiques.*

Donc, même résultat que dans l'expérience précédente. Toutefois, il y a lieu de remarquer que l'incubation, chez l'animal vacciné contre la rage a été sensiblement plus longue que chez le témoin (20 jours au lieu de 9). Quoi qu'il en soit, ces recherches montrent bien que *la vaccination anti-rabique ne confère pas une immunité bien solide vis-à-vis de l'infection par le virus de la poliomyélite.*

Les expériences concernant l'action directe et croisée du sérum anti-rabique et anti-poliomyélitique confirment ces conclusions. En voici la preuve :

Exp. 1. — *Sérums anti-poliomyélitique et anti-rabique, en mélange avec le virus de la poliomyélite.* On se sert du sérum du *Mac. rhesus* n° 78, saigné 15 jours après le début de la paralysie. On emploie le sérum anti-rabique de mouton, mis obligeamment à notre disposition par M. le Dr A. Marie, de l'Institut Pasteur. Virus poliomyélitique de passage (émulsion dans de l'eau salée, filtrée sur papier). On prépare les mélanges suivants :

- 1° Deux cent. cubes de virus + 2 c. c. sérum de mouton neuf (contrôle).
- 2° Deux cent. cubes de virus + 2 c. c. sérum anti-rabique.
- 3° Deux cent. cubes de virus + 2 c. c. sérum de Rhesus neuf (contrôle).
- 4° Deux cent. cubes de virus + 2 c. c. sérum anti-poliomyélitique.

Les mélanges sont conservés pendant trois heures à la température de la chambre, et pendant la nuit à la glacière. Le 29 novembre 1910, on inocule :

*Mac. sinicus* n° 83, mélange virus + sérum mouton neuf (témoin). Le 6 décembre (*Incub. de 7 jours*), paraplégie nette. Le lendemain, paraplégie complète; mourant. *Lésions typiques.*

*Mac. sinicus* n° 79, mélange virus + sérum anti-rabique. Le 12 décembre (*Incub. de 13 jours*), paraplégie; le 14, l'animal est couché; il meurt le 15 décembre.

*Mac. sinicus* n° 81, mélange virus + sérum de singe neuf (témoin). Le 4 décembre (*Incub. de 5 jours*), tremblements généralisés, plus accentués dans la tête. Le lendemain, l'animal reste couché, paralysie généralisée. On le tue au gaz. *Lésions typiques.*

*Mac. sinicus* n° 82, mélange virus + sérum anti-poliomyélitique. Survit sans avoir montré de troubles.

L'expérience montre que *si le sérum anti-poliomyélitique agit sur le virus de la paralysie infantile, par contre, le sérum anti-rabique de mouton n'exerce pas d'action microbicide manifeste sur ce virus.*

Exp. 2. — *Sérums anti-rabique et anti-poliomyélitique en mélange avec le virus rabique.*

On se sert du même sérum anti-poliomyélitique, qui s'est montré microbicide vis-à-vis du virus de la paralysie infantile, et du sérum anti-rabique de mouton. Virus rabique de passage, émulsion à 1 : 100, filtrée sur papier. On prépare les mélanges suivants :

- 1° Un cent. cube de *virus* + un cent. cube *sérum anti-poliomyélitique*.
- 2° Un cent. cube de *virus* + un cent. cube *sérum singe neuf* (témoin).
- 3° Un cent. cube de *virus* + un cent. cube *sérum anti-rabique*.
- 4° Un cent. cube de *virus* + un cent. cube *sérum mouton neuf* (contrôle).

Les mélanges sont conservés pendant quatre heures à la température de la chambre, et pendant la nuit à la glacière. Le 29 décembre 1911, on inocule (0,5 dans le cerveau) :

MÉLANGE	LAPINS	RAGE	MORT
Sérum anti-poliomyélitique.	1	<i>Positif</i> , le 8 janvier.	Le 10 janvier.
	2	<i>Positif</i> , le 6 janvier.	Le 10 janvier.
Sérum singe neuf . . . . .	3	<i>Positif</i> , le 6 janvier.	Le 9 janvier.
	4	— " —	Le 9 janvier.
Sérum anti-rabique . . . . .	5	0	0
Sérum mouton neuf. . . . .	7	<i>Positif</i> , le 6 janvier.	Le 11 janvier.
	8	<i>Positif</i> , le 7 janvier.	Le 10 janvier.

Cette expérience montre que le virus rabique est neutralisé par le sérum anti-rabique, tandis qu'il résiste au sérum anti-poliomyélitique.

Une seconde expérience, où nous avons employé une émulsion de virus rabique au dixième au lieu du centième, a abouti à un résultat analogue, sauf en ce qui concerne le sérum anti-rabique : un seul des deux lapins inoculés a survécu, l'autre a contracté la rage, ce qui ne surprend pas, étant donnée la trop grande richesse de l'émulsion en virus rabique.

Il en résulte que la vaccination active, ainsi que l'action directe et croisée des sérums spécifiques, permettent de différencier le virus poliomyélitique de celui de la rage.



Cette différence entre les deux virus ressort également des essais de neutralisation résumés ci-dessous :

En 1910 et 1911, dans deux notes parues dans les *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* (1), M. A. Marie a fait connaître des expériences concernant l'action neutralisante exercée vis-à-vis du virus rabique, par une substance isolée des centres nerveux, au moyen d'un procédé spécial (2). Nous avons, de notre côté, grâce à l'obligeance de l'auteur, recherché si cette substance se comportait de la même manière à l'égard du virus de la maladie de Heine-Medin. Voici les détails de nos essais :

Le 30 mars 1911, on prépare une émulsion de fragments de moelle (poliomyélite) conservés pendant deux jours à la glacière. L'émulsion est filtrée sur papier, puis mélangée à volumes égaux avec l'extrait de substance nerveuse préparé par M. Marie et dont le pouvoir anti-rabique avait été éprouvé. D'un autre côté, on fait une dilution de virus dans de l'eau salée, servant comme témoin. Les mélanges restent pendant la nuit à la glacière. Le 1<sup>er</sup> mai 1911, on inocule :

*Mac. rhesus* n° 73 reçoit dans le cerveau (0,5) et le péritoine (1,25) le mélange virus + extrait érébral. Le 7 mai (*Incub. de 6 jours*), l'animal paraît abattu, hésite à sauter. Le 10, paraplégie complète, parésie des membres supérieurs. Le 11, paralysie complète; on le sacrifie. *Lésions typiques*.

*Mac. rhesus* n° 74, témoin. Le 10 mai (*Incub. de 9 jours*), tremblements de la tête et parésie des membres inférieur et supérieur droits. Paralysie généralisée le 12. On le sacrifie. *Lésions typiques intenses*.

L'expérience montre que l'extrait de matière nerveuse préparé par M. Marie, qui jouit de propriétés antirabiques manifestes *in vitro*, ne neutralise pas dans les mêmes conditions le virus de la poliomyélite.

### 5. VOIES DE PÉNÉTRATION DU VIRUS.

Nous avons essayé d'éclaircir plusieurs points encore obscurs se rattachant au mode de pénétration du virus de la poliomyélite dans l'organisme.

En premier lieu, nous avons tenté de préciser l'infectiosité du virus administré par la voie *intraveineuse*. Flexner et Lewis (3) ont réussi une fois à conférer la paralysie infantile

(1) T. GL, p. 1775 (1910); t. CLII, p. 1514 (1910).

(2) Voy., pour les détails de la préparation, les notes citées ci-dessus.

(3) FLEXNER et LEWIS. *Journ. of the americ. med. Assoc.*, 1909, XII, n° 4.

en injectant l'émulsion virulente dans les veines; par contre, Leiner et Wiesner (1) n'ont enregistré que des résultats négatifs, il est vrai dans des circonstances peu favorables, étant donné que la plupart de leurs animaux ont succombé à des infections intercurrentes. Nous avons, en outre, communiqué nous-même une expérience montrant que l'introduction du virus dans une ramification de la veine mésentérique provoque la paralysie infantile chez le singe.

Une nouvelle tentative nous a permis de constater que, conformément aux affirmations de Flexner et Lewis, l'injection de l'émulsion infectante dans la *veine jugulaire* aboutit également à l'éclosion des phénomènes paralytiques. En voici les détails :

*Mac. rhesus* X reçoit, le 28 novembre 1910, dans la veine jugulaire gauche (*bout central*), 2 cent. cubes d'une émulsion virulente fraîche, filtrée sur papier. Le 8 décembre (*Incub. de 10 jours*), l'animal est couché; *il s'est paralysé d'emblée*, sans que l'on ait observé chez lui le moindre symptôme précurseur la veille au soir. On le sacrifie, et l'examen histologique révèle des lésions intenses intéressant la moelle dans toute sa longueur.

Quels effets obtient-on lorsqu'on pratique l'injection du virus non pas dans la veine jugulaire, mais dans l'*artère carotide*? La question est intéressante au point de vue de la pathogénie de la forme polioencéphalique de la maladie de Heine-Medin. Nous avons réalisé une seule tentative de ce genre et le résultat a été négatif. Quoique cette unique expérience soit insuffisante pour résoudre le problème, nous en exposons néanmoins les détails, nous proposant de revenir ultérieurement sur ce sujet :

Le 5 juillet, un *Mac. Rhesus* reçoit dans l'*artère carotide* (bout périphérique), 2 cent. cubes de virus frais. L'artère a été ligaturée en dessous de la piqure et le lien a été maintenu durant un quart d'heure, pendant et après l'injection. On a ligaturé en même temps la veine jugulaire correspondante. L'animal a survécu pendant plusieurs mois, sans avoir jamais présenté de troubles moteurs apparents.

La réceptivité de l'*appareil digestif* pour le virus de la poliomyélite est loin d'être précisée à l'heure actuelle. Nos nombreuses tentatives de transmission de la paralysie infantile par la voie gastrique, faites non seulement sur des singes inférieurs, mais aussi sur le chimpanzé, sont toutes restées infruc-

(1) LEINER et WIESNER, *loc. cit.*, p. 147.

tueuses (1). Seuls, Leiner et Wiesner ont réussi à transmettre l'infection par cette voie, et aussi par l'intestin, il est vrai dans des conditions qui diffèrent sensiblement du mode de contamination naturelle (ingestion de teinture d'opium, injection directe dans l'intestin). Ayant constaté que le virus se conserve bien dans du lait, nous avons essayé d'infecter les singes en leur faisant ingérer du lait contaminé, ou en leur introduisant un tel lait dans le rectum. Or, *malgré la longue durée de l'expérience et la quantité relativement considérable de lait virulent administrée par l'une ou l'autre de ces voies, nous n'avons pas réussi à infecter nos animaux. Ces animaux n'ont pas acquis non plus l'immunité*, attendu qu'ils ont contracté la paralysie infantile lors d'une inoculation d'épreuve, faite quelque temps après. Voici, d'ailleurs, les détails de ces expériences :

*Macacus sinicus* n° 56 reçoit par la sonde stomacale, du 18 avril 1911 au 5 mai, tous les jours, 20 cent. cubes d'un mélange de lait et de virus conservé à la température de la chambre (200 cent. cubes de lait + 100 cent. cubes d'émulsion virulente), soit en tout 340 cent. cubes. Aucun trouble apparent jusqu'au 13 mai. A ce moment, infection d'épreuve. Le 22 mai (*Incub. de 9 jours*), faible parésie des membres inférieurs, tremblements. Le 23, paralysie complète des membres supérieurs et des muscles de la nuque, parésie des membres inférieurs. Meurt le 24 mai. *Lésions typiques*.

*Mac. rhesus* n° 68 reçoit dans le rectum, par la sonde, du 29 avril au 25 mai, tous les jours, 5 cent. cubes de lait additionné de virus, soit en tout environ 130 cent. cubes. Pas de troubles morbides jusqu'au 26 mai. Eprouvé à cette date, il se paralyse le 2 juin et est sacrifié le 3; *lésions typiques*.

Comme nous l'avons déjà dit dans notre premier mémoire, *l'infection par la voie digestive paraît impossible dans les conditions habituelles*. Si Leiner et Wiesner ont réussi à transmettre la maladie par cette voie, c'est qu'ils se sont placés dans des conditions particulièrement favorables, qui s'écartent sensiblement de celles de la vie normale. La question est de savoir si, au cours des épidémies, de telles conditions se trouvent réalisées et si la contamination par le canal alimentaire entre alors en ligne de compte. L'étude épidémiologique de la maladie, aidée par des investigations expérimentales faites avec des matériaux humains (muqueuse digestive, ganglions mésentériques) pourra peut-être résoudre définitivement ce problème.

(1) Cf. notre précédent mémoire.



En attendant, il nous a été donné de recueillir une observation digne d'intérêt au point de vue du mode de pénétration et d'élimination du virus de la paralysie infantile (1). La voici :

OBSERVATION. — P... A..., âgé de deux ans, entre dans le service (hôpital Wilhelmine, de Vienne), le 7 avril 1911, pour une pleurésie tuberculeuse. Pas de changement appréciable dans l'état du malade jusqu'au 7 mai. A ce moment, on constate des vomissements, de la fièvre (38°5), *une rougeur de la gorge et des dépôts blanchâtres sur les amygdales*. Le lendemain, la gorge est très rouge, mais les dépôts se sont détachés en partie.

Le 10 mai, dans la matinée, l'enfant est agité, ne peut plus s'asseoir, et l'on observe une paralysie flasque des deux membres inférieurs, des muscles du dos et de la nuque; les réflexes sont abolis. L'après-midi, paralysie des membres inférieurs et du bras gauche. Le malade succombe dans la nuit par suite d'une paralysie des centres respiratoires.

Nécropsie (11 mai) : *Polyomyélite aiguë; hypertrophie des amygdales avec dépôts dans les lacunes (angine lacunaire), hypertrophie des follicules de la base de la langue, des ganglions du cou et du mésentère. Pleurésie tuberculeuse gauche. L'examen microscopique de la moelle montre des lésions typiques de polyomyélite aiguë; celui de l'amygdale permet de constater les modifications suivantes : l'épithélium est exulcéré partiellement; ses couches superficielles sont desquamées, et les cellules épithéliales sont dégénérées, parfois dans toute l'épaisseur du revêtement muqueux. Souvent l'épithélium est traversé par des éléments migrants, en particulier par des leucocytes à noyaux polymorphes; ces leucocytes se dirigent de la profondeur vers la surface et finalement pénètrent dans la masse exsudative qui couvre la muqueuse. De plus, on décèle au niveau de l'exsudat, de nombreux amas de coccus.*

Des fragments d'organes sont placés dans de la glycérine au liers et envoyés à l'Institut Pasteur. On les reçoit le 15 mai et l'on en prépare des émulsions dans de l'eau salée isotonique, émulsions que l'on injecte aux singes, à la dose de 0,5 cent. cube dans le cerveau, et 1 cent. cube, 5 dans le péritoine.

*Mac. rhesus* n° 82, inoculé avec la moelle épinière. Le 22 mai (*Incub. de 7 jours*) : Parésie des deux membres droits, tremblements généralisés. Le 23, paralysie complète. L'animal est sacrifié le 24 mai. L'examen histologique de la moelle montre des lésions intenses de poliomyélite aiguë (inflammation périvasculaire, infiltration leucocytaire de la substance grise, neuronophagie). Un passage fait sur le *Mac. sinicus* n° 72 a donné un résultat positif.

*Mac. rhesus* n° 83, inoculé avec l'amygdale. Le 23 mai (*Incub. de 8 jours*) : L'animal hésite à sauter et paraît présenter une parésie des membres inférieurs. Le 25, *paralysies des orbiculaires des paupières*, tremblement de la tête, parésie des membres inférieurs. Le 26, paralysie du membre supérieur gauche, surtout de l'avant-bras et de la main, paralysie du membre

(1) LANDSTEINER, LEVADITI et PASTIA, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLII, p. 1701, 12 juin 1911.

inférieur droit. Le 27, même état; le 28, l'animal est couché, paralysie généralisée, avec prédominance du type supérieur. On le sacrifie et, à l'examen histologique, on constate des lésions typiques et intenses de poliomyélite.

*Mac. rhesus* n° 25, inoculé avec le *pharynx*. Le 31 mai (*Incub. de 16 jours*) : agitation; le lendemain, tremblements de la tête et incoordination des mouvements. Le 3 juin, l'animal tombe quand il saute, parésie des membres gauches. Le 5 juin, paralysie presque complète. Survit en conservant ses paralysies qui rétrocedent en partie.

Un singe inoculé le 15 mai avec les *ganglions cervicaux* et trois autres injectés le 26 mai avec la *rate*, la *glande salivaire* et les *ganglions mésentériques* ont survécu sans avoir présenté des troubles moteurs ou autres.

L'intérêt de cette observation réside dans le fait que *la poliomyélite a débuté chez l'enfant par des symptômes manifestes d'angine lacunaire, et que le virus spécifique a été décelé précisément dans les amygdales et le pharynx, en dehors du système nerveux central*. En effet, l'inoculation de l'amygdale, du pharynx et de la moelle épinière a conféré la paralysie infantile, tandis que la même inoculation faite avec les ganglions cervicaux, la rate et les glandes lymphatiques du mésentère a été inoffensive. *Il semble donc très probable que le microbe filtrant de la poliomyélite a eu, comme porte d'entrée, dans notre cas, les amygdales et la muqueuse du pharynx*. En outre, la présence du virus dans l'amygdale et le pharynx rend de plus en plus vraisemblable sa pénétration dans les sécrétions de la gorge et, par conséquent, la possibilité d'une contamination au moyen de ces sécrétions. Nous avons vu sur les coupes d'amygdales de nombreux éléments migrants abandonner les couches profondes pour s'insinuer entre les cellules épithéliales, se déverser au dehors et prendre part à la constitution de l'exsudat qui couvre par places cette muqueuse; nous avons constaté, d'autre part, que cette muqueuse était, çà et là, exulcérée. Ce sont là autant de conditions qui doivent faciliter la sortie du virus et sa pénétration dans les sécrétions pharyngées (1). Ces faits, et aussi les expériences antérieures de Flexner et Lewis (2), concernant la présence du germe de la maladie de

(1) Les coupes montrent une pullulation abondante de staphylocoques à la surface de la muqueuse amygdalienne, au niveau de l'exsudat et surtout là où on constate l'infiltration de l'épithélium par des éléments migrants. Nous nous demandons si des infections microbiennes locales et banales ne pourraient faciliter la pénétration du virus de la poliomyélite dans l'amygdale et le pharynx.

(2) FLEXNER et LEWIS, *Journ. of the Americ. med. Assoc.*, 1911.

Heine-Medin dans la muqueuse nasale des singes infectés, mettent ainsi en lumière l'importance du naso-pharynx au point de vue du mode de pénétration et d'élimination du virus de la poliomyélite (1). Quoi qu'il en soit, nos recherches prouvent qu'il est tout indiqué d'examiner dorénavant, au moyen de l'inoculation au singe, les amygdales des sujets atteints de poliomyélite, et aussi dans les cas suspects, au point de vue de leur teneur en virus.

L'observation dont nous venons d'exposer les détails nous paraît intéressante à un autre point de vue. Grâce à l'obligeance de M. le Dr Foltanek (2), chef de service, nous avons fait une enquête dans le but de préciser, si possible, les relations de contagiosité entre notre cas et d'autres cas de poliomyélite avec lesquels notre malade a pu venir en contact à l'hôpital même, ou au dehors. Cette enquête nous a permis de recueillir les données suivantes :

Le dernier cas de poliomyélite aiguë qui a été reçu dans le service, avant notre malade, y a séjourné du 12 janvier 1910 au 30 janvier de la même année. Notre malade, qui a été hospitalisé le 7 avril 1911, est donc entré dans le service environ quatorze mois après ce dernier cas de paralysie infantile. *Il montra les premiers symptômes de poliomyélite le 7 mai* et succomba le 10 du même mois. Or, il y a quelques semaines, un second enfant se présente à la clinique avec une paralysie de la jambe nettement poliomyélitique; à l'interrogatoire, on apprend que ce second malade, avant qu'il soit atteint de paralysie, a séjourné dans la même salle que le premier sujet du 11 au 30 avril, soit *à un moment où ce premier sujet ne présentait pas encore des signes de poliomyélite* (il n'eut, en effet, l'angine que sept jours après cette date). Ces données permettent de formuler deux hypothèses : ou bien les deux enfants se sont-ils infectés à la même source, à l'hôpital, ou bien l'un d'eux a infecté l'autre, d'où il s'ensuivrait que l'un ou l'autre était

(1) Dans un autre cas, dont l'observation a été publiée en collaboration avec Froin et Pignot (*Bull. de la Soc. méd. des Hôp.*, séance du 3 février 1911), il nous a été impossible de déceler le virus dans les amygdales.

(2) Nous prions M. le Dr Foltanek de recevoir ici nos meilleurs remerciements pour l'amabilité avec laquelle il a mis ces renseignements à notre disposition.



*porteur de virus.* Ce qui nous semble probable, c'est qu'il y a eu relation intime entre les deux cas, attendu qu'à ce moment il n'y avait pas d'épidémie de poliomyélite à Vienne. Dans ce cas, nous devons admettre que le second malade a conservé le virus, sans montrer des phénomènes morbides, pendant au moins *quatre mois*.

*Est-il possible de conférer la paralysie infantile au singe en déposant tout simplement dans le nez des sécrétions nasales recueillies sur d'autres simiens paralysés?* C'est là une question qui mériterait d'être examinée expérimentalement d'une façon suivie. Nous en avons ébauché l'étude, sans toutefois réussir à obtenir un résultat positif, malgré le soin que nous avons eu de nous adresser au chimpanzé, animal très sensible au virus de la poliomyélite. Voici les détails de l'expérience en question :

On se sert, comme source de virus, d'un *Mac. rhesus* n° 31, injecté le 6 mars et qui a commencé à se paralyser le 17 mars. L'animal présentait une paralysie de la jambe droite, qui s'est généralisée au bras et à la main gauche en quelques heures. On badigeonne la muqueuse nasale avec de l'huile de croton, ce qui provoque une congestion intense de la muqueuse. Au bout de dix minutes environ, on lave la muqueuse avec 2 centimètres cubes d'eau salée, à deux reprises. L'eau de lavage sert à badigeonner la muqueuse nasale du chimpanzé *E*, au moyen d'un tampon de coton. Le chimpanzé survit sans avoir jamais présenté des troubles paralytiques.

Nous nous proposons de poursuivre l'étude de cette question.

## 6. ESSAIS DE VACCINATION.

Nous avons montré, dans notre précédent mémoire, qu'il est possible de vacciner le singe au moyen d'injections répétées de moelles desséchées, suivant le procédé de Pasteur appliqué à la rage. Par contre, le virus tué par un chauffage à 55 degrés s'est montré incapable de conférer l'immunité. Depuis, Rømer (1) a relaté quelques expériences qui mettent en évidence l'action vaccinante des émulsions de moelles chauffées à 50 degrés. Nous avons fait, de notre côté, quelques essais

(1) RØMER, *Die epidemische Kinderlähmung*. Berlin, Springer, 1911, p. 208-209.

dans la même voie et nous avons obtenu les résultats suivants :

Exp. 1. — Le 20 avril, on chauffe à 50 degrés, pendant une demi-heure, une émulsion de moelle virulente et on en injecte 0 c. c. 5, par la voie sous-cutanée, au *Mac. cynomolgus* A. Le 5 mai, on éprouve sa sensibilité, en même temps que celle d'un *Mac. sinicus* servant comme *témoin*. Le témoin se paralyse le 12 mai (*Incub. de sept jours*), et meurt le 13; le traité tombe malade deux jours plus tôt, se paralyse progressivement et meurt le 20 mai.

D'après cette expérience, *une seule injection de virus chauffé à 50 degrés ne paraît pas vacciner efficacement*. En est-il de même lorsqu'on répète l'inoculation à plusieurs reprises?

Exp. 2. — Des fragments de moelle et de cerveau provenant d'un singe infecté avec le *virus F* et sacrifié en pleine évolution de la poliomyélite, sont triturés dans l'appareil Latapie, puis émulsionnés dans 100 centimètres cubes d'eau salée additionnée de 30 p. 100 de glycérine. L'émulsion est centrifugée légèrement, de façon à la débarrasser des grumeaux, puis chauffée dans des tubes à essais, pendant deux heures à 50 degrés. On conserve les tubes à la température de la chambre. Deux jours après la préparation du vaccin, on essaie sa virulence pour le singe, en injections cérébrale et péritonéale :

*Mac. rhesus* n° 36, reçoit le 15 février 0,5 dans le cerveau et 1,5 dans le péritoine.

Le 24 février (*Incub. de neuf jours*), l'animal est abattu; le lendemain, paralysie généralisée, raideur de la nuque. Mort le 26 février. *Lésions typiques*.

Cette expérience montre que le vaccin (*virus chauffé à 50 degrés*) renferme du *virus actif* en injection intracérébrale.

#### *Vaccination.*

*Mac. rhesus* n° 28, reçoit du 15 février au 6 mars, tous les jours, sous la peau, 2 centimètres cubes de vaccin; du 8 mars au 16 mars, on répète les injections quotidiennes avec une autre préparation de vaccin, faite de la même manière. Le 25 mars, soit *neuf* jours après la dernière inoculation vaccinnante, on essaie sa sensibilité, en même temps que celle du témoin *Mac. rhesus* n° 30.

Le 31 mars, le vacciné paraît agité, mais il est tout à fait bien portant le 3 avril. Survit. Le témoin montre des tremblements le 31 mars, hésite à sauter le 2 avril. Le 4, les tremblements sont très accusés, parésie du train postérieur. Survit.

*Mac. rhesus* n° 29, reçoit du 15 février au 6 mars, tous les jours, 2 centimètres cubes du même vaccin. Il est éprouvé le 6 mars, en même temps que le témoin *Mac rhesus* n° 78. Le témoin se paralyse le 12 mars (*Incub. de six jours*) (paralysie des membres supérieurs, tremblements de la tête).

Le 13, paralysie généralisée; on le sacrifie. *Lésions typiques*. Le vacciné survit, sans avoir jamais montré de troubles morbides.

Il semble donc résulter de ces expériences que *l'injection sous-cutanée, souvent répétée, de virus chauffé à 50 degrés confère un état réfractaire appréciable*. Les émulsions portées pendant deux heures à cette température continuent à être actives en injection intracérébrale, tout en se montrant

inoffensives pour le singe lorsqu'elles sont inoculées sous la peau (1).

# 7. RECHERCHES SUR L'AMYOTROPHIE SPINALE DU TYPE WERDNIG-HOFFMANN.

(En collaboration avec MM. PRÁŠEK et ZATELLI) (2).

Étant donné ce que l'on a établi au sujet de l'étiologie spécifique de la poliomyélite aiguë, on est en droit de se demander si d'autres affections chroniques de la moelle épinière, en particulier celles qui s'accompagnent de lésions des cornes antérieures, ne sont pas engendrées par le même virus, ou par un virus se rapprochant plus ou moins de celui de la maladie de Heine-Medin. Le fait déjà connu de la conservation de certains microbes dans l'organisme pendant longtemps, rend l'hypothèse fort plausible. Des recherches de ce genre peuvent être effectuées, soit en inoculant des matériaux humains (système nerveux central, ganglions lymphatiques) à des animaux sensibles, en particulier à des singes, soit en s'adressant aux propriétés spécifiques du sérum. Nous avons pu réaliser une telle expérience d'inoculation avec la moelle épinière d'un sujet atteint d'une affection chronique des cornes antérieures; voici ce que nous avons constaté :

Il s'agit d'un cas rare d'*atrophie spinale progressive des jeunes enfants, du type Werdnig-Hoffmann* (3), dont les caractères cliniques correspondent à ceux décrits par les auteurs qui ont étudié cette affection (4). L'enfant, dont la sœur est atteinte de la même maladie, a succombé à la suite d'une pneumonie intercurrente. La moelle épinière fut inoculée dans le cerveau de deux *Cynocephalus hamadryas* le 27 fé-

(1) Nous avons également fait quelques essais dans le but de guérir des singes déjà paralysés ou de prévenir l'infection. Nous nous sommes servis d'arsénobenzol (0 gr. 025 dans le péritoine) et de l'*Urotropine* (Cf. Flexner et Clark. *Journal of the Americ. med. Assoc.*, 18 février 1911), mais nous n'avons enregistré que des résultats négatifs.

(2) Communication préliminaire à la fr. Verein. für Mikrobiolog. Dresde. 1911 (Cf. *Centralblatt für Bakt.*, 1911, Vol. L, Ref. p. 38).

(3) WERNIG, *Arch. Psych.*, 1911; HOFFMANN, *Deutsche Zeitschr. für Nervenheilk.*, 1893; RITTER, *Jahrb. f. Kinderheilk.*, vol. LIX.

(4) Une courte description de ce cas a été publiée par Popper, *Gesell. für inn. Med. und Kinderheilkunde*. Vienne, séance du 22 avril 1909.



vrier 1911. Le 31 mars, les deux animaux sont malades (tremblements); l'un d'eux se couche, puis meurt le même jour; l'autre succombe le 2 avril. L'examen histologique de la moelle montre des infiltrations péri-vasculaires tout à fait comparables à celles de la poliomyélite, des foyers inflammatoires dans la substance grise et des phénomènes de neuronophagie. *L'inoculation a donc été suivie d'un résultat nettement positif.*

Malgré ce résultat, il nous est, pour l'instant du moins, impossible d'affirmer quoi que ce soit de précis au sujet de l'étiologie de l'amyotrophie spinale du type Werdnig-Hoffmann. En effet, les deux animaux inoculés ont été en contact pendant quelques jours avec d'autres singes infectés avec le virus de la poliomyélite, de sorte qu'on ne peut pas exclure, avec toute la certitude voulue, la possibilité d'une contamination. Toutefois, une telle contamination est peu probable, si l'on tient compte du fait que jamais, ni nous-mêmes, ni les autres chercheurs qui ont étudié la poliomyélite expérimentale du singe, n'avons constaté des cas certains de contagion en cage (Cf. Leiner et Wiesner, Flexner, Rømer). Cela enlève une grande partie de sa valeur à l'objection qui vient d'être formulée. Mais, d'un autre côté, il y a lieu d'observer que la maladie amyotrophique de Werdnig-Hoffmann possède certains caractères qui rendent, jusqu'à un certain point, surprenante l'existence d'une relation étiologique intime entre cette maladie d'une part, et la poliomyélite d'autre part. On sait, en effet, que cette forme d'amyotrophie est essentiellement familiale et qu'elle atteint non seulement plusieurs enfants appartenant à la même famille, frères et sœurs, mais encore plusieurs générations successives. Nous devons donc envisager avec une certaine réserve les résultats de l'expérience qui précède, malgré leur netteté, tout en insistant sur l'intérêt qu'il y aurait à entreprendre des recherches suivies dans cette voie.

Vienne-Paris, le 20 septembre 1911.

## **MALADIES A PROTOZOAIRES ET LÉSIONS DES CAPSULES SURRÉNALES**

par M. ELMASSIAN

On connaît les lésions de presque tous les organes internes de l'homme et des animaux dans les infections provoquées par les Protozoaires. Cependant, on sait peu de chose sur les altérations d'un organe fort important, la capsule surrénale.

Étant donné son rôle physiologique considérable, et, d'autre part, sa grande vulnérabilité vis-à-vis des agents pathogènes, en général, on aurait pu, semble-t-il, s'en occuper davantage. Au point de vue théorique, on peut se demander si les lésions des surrénales, au cours des infections parasitaires, sont identiques ou non à celles que l'on rencontre dans les affections bactériennes. Au cas où ses altérations seraient spéciales, quels en seraient les caractères? Telles sont les questions que nous nous sommes posées au début de ces recherches.

Au point de vue pratique, la solution de ces problèmes comporte certains avantages : la connaissance exacte des lésions des surrénales dans les maladies à Protozoaires, permettrait peut-être de mieux faire la part des troubles fonctionnels qui reviennent à chaque organe. En outre, dans les cas d'infections spontanées, chez l'homme, dues aux mêmes agents pathogènes, nous pourrions profiter en toute connaissance de cause de l'opothérapie, ne fût-ce que comme palliatif.

F. Luksch (1905), pour mettre en évidence les troubles fonctionnels des surrénales chez des animaux artificiellement infectés, préparait leur extrait et injectait aux lapins neufs, et suivant le degré de l'hypertension produite, il concluait à leur plus ou moins grande altération.

M. Goldzieher (1908), se basant sur la réaction colorante d'adrénaline de Zanfognini (coloration rose en présence d'une solution d'adrénaline ou de l'extrait des surrénales et d'hyper-manganate de potasse, en milieu acide) a cherché à évaluer, dans les surrénales malades (affections septiques, artériosclé-

rose, etc.) leur teneur en adrénaline, et d'en inférer leurs modifications.

Tous ces procédés, soigneusement exécutés, peuvent donner d'appréciables résultats, mais nous font faire un grand détour. La réaction du système chromaffine, siège de la production de l'adrénaline, au contact du bichromate de potasse, est fort suffisante, pensons-nous, pour déterminer les troubles histologiques et, partant, les troubles fonctionnels des surrénales. Il nous semble plus simple d'y recourir pour s'en rendre compte dans un cas donné.

Comme matériel d'étude, nous avons choisi trois espèces de Protozoaires appartenant chacune à un groupe différent : le *Tryp. Brucei*, le *Spir. Duttoni*, et le *Piropl. canis*. Des souris ont été infectées avec les deux premiers, et des chiens avec le troisième. Dans ce dernier cas, l'infection se produisant chez un animal qui peut en être spontanément atteint, nous nous sommes trouvé dans de meilleures conditions de recherches.

Quant à la technique adoptée, elle consiste à tuer les animaux par un coup violent à la nuque (éviter le chloroforme et la saignée, qui, suivant plusieurs auteurs, provoqueraient l'épuisement des cellules chromaffines), prélever immédiatement les capsules surrénales, en fixant l'une dans de la solution de sublimé corrosif, ou ses mélanges, et l'autre dans le liquide d'Orth.

La première servira à la coloration ultérieure des coupes par la nouvelle méthode de Giemsa, pour laquelle la fixation au sublimé est indispensable; la seconde à contrôler la réaction du système chromaffine, avec du bichromate de potasse.

Voici le mélange que nous employâmes comme fixateur au sublimé :

Sol. sat. aqueuse de sublimé corrosif. . . . .	} à à
Sol. sat. aqueuse d'acide picrique . . . . .	
Alcool absolu . . . . .	

Laisser les pièces dans le liquide de six à vingt-quatre heures; lavage à l'alcool à 70°. Laver une dernière fois les coupes avant de les porter dans les bains colorants, d'abord avec de l'alcool iodé à 70 degrés (deux heures), puis les laisser



quelque temps dans de l'alcool à 70 degrés simple, et enfin, les passer à l'eau distillée pour chasser l'alcool.

On colore les coupes dans une solution diluée du colorant de Giemsa (2 centimètres cubes p. 100 d'eau distillée) durant au moins douze ou seize heures, et on les monte au baume en les déshydratant rapidement dans de l'acétone pure. Par ce procédé, on obtient, non seulement une double coloration, mais en même temps celle des parasites et des granulations chromaffines.

Les pièces fixées au liquide d'Orth sont lavées rapidement dans de l'alcool à 70 degrés pendant quelques heures, et incluses sans retard dans de la paraffine. Le système chromaffine est imprégné de la sorte d'une couleur ocre jaune foncé. Il suffit de passer les coupes un moment dans une faible solution d'hématoxyline, ou du bleu de toluidine, en ayant soin que les préparations soient à peine colorées, et l'on n'aura pas masqué ce qu'il y a de plus intéressant dans les coupes : les parties chromisées.

MM. les D<sup>rs</sup> Delanoë et Ciuca ont bien voulu nous céder quelques-uns de leurs animaux en expérience, nous trouvons ici l'occasion de leur présenter nos plus vifs remerciements.

*Lésions des surrénales provoquées par le « Piropl. canis ».* — De jeunes chiens de trois à cinq mois recevaient dans le péritoine de 5 à 10 centimètres cubes de sang défibriné et parasité. Habituellement, après quarante-huit heures, apparaissent quelques piroplasmes dans le sang; les jours suivants, ils y deviennent très nombreux. La crise dure un ou plusieurs jours, il y a une ou deux rechutes, et les animaux guérissent encore assez souvent. Ils succombent parfois à la cachexie progressive; ou en pleine infection, d'ailleurs rarement.

Nous avons sacrifié nos chiens à ces diverses périodes d'infection, et nous avons pu ainsi nous rendre compte des variations des processus pathologiques des surrénales. En règle générale, les lésions étaient d'autant plus étendues et graves que l'affection durait depuis plus longtemps, ou que les parasites persistaient en plus grand nombre dans la circulation périphérique. Un chien inoculé par M. Ciuca avec du *Piropl. canis*, et préalablement dératé, présenta de nombreux parasites dans le sang pendant quarante-cinq jours de suite, et succomba dans un état de profonde cachexie.

Cette persistance anormale des piroplasmes dans la circulation périphérique serait-elle due à ce que l'animal ayant arraché son pansement, après l'opération, portait une large plaie abdominale? Il est difficile d'y répondre. En tout cas, ses capsules surrénales, que M. Ciuca a bien voulu nous remettre, se montraient, à l'examen microscopique, très profondément altérées.

D'habitude, à l'autopsie des chiens piroplasmés, on ne trouve rien à noter, en dehors d'une légère hypertrophie et hyperémie de ces organes. Mais à l'examen des coupes, l'attention est de suite attirée par l'énorme accroissement du volume de la couche médullaire qui peut atteindre parfois le double de ses dimensions normales; et c'est à cela qu'est due l'exagération totale du volume des surrénales. Les lésions destructives qu'on trouve en abondance dans les travées médullaires ne sont pas produites par l'action directe de l'agent nocif, mais bien par la réaction inflammatoire et proliférative du tissu interstitiel, auquel vient s'ajouter encore une invasion leucocytaire. Les éléments les plus atteints sont ceux de l'endothélium épithélial des capillaires et des petits vaisseaux: ils ont subi une très forte multiplication et s'accumulent en amas entre les travées de la médullaire, tous hypertrophiés et hyperchromatiques, reconnaissables seulement aux caractères de leurs noyaux. Ces cellules endothéliales, avec quelques leucocytes polynucléaires, ont pénétré dans les interstices du tissu parenchymateux en y provoquant un désordre considérable. Les cellules chromaffines sont comprimées, déchiquetées par leur masse, et par endroits réduites à des fragments informes. En un mot, il y a là tous les signes d'une inflammation subaiguë du tissu conjunctivo-vasculaire qui, à elle seule, était capable d'altérer profondément, et même sur certains points, de détruire complètement les travées médullaires.

Quant aux lésions essentiellement parenchymateuses, nous les envisagerons suivant l'état des grains chromaffines, et les modifications des cellules qui les contiennent.

Dans les coupes des pièces chromisées, les points lésés se trahissent ou par l'aspect homogène du contenu cellulaire, ou par la diminution de sa couleur spécifique, ou enfin, par la complète disparition du produit sécrétoire. Il est nécessaire

d'éclairer très suffisamment ces coupes à l'examen microscopique, car une partie des granulations qui se trouve à l'état dissous dans les cellules peut masquer les granulations solides. Les parties saines sont d'un jaune d'ocre finement granuleux, tranchant facilement sur les parties atteintes, même à un faible grossissement.

Nous avons constaté que les lésions parenchymateuses sont surtout localisées dans la médullaire autour des grosses veines. Il n'est même pas rare d'y trouver des zones entières ne présentant plus trace de la réaction chromique, mais néanmoins reconnaissables à leurs caractères morphologiques comme

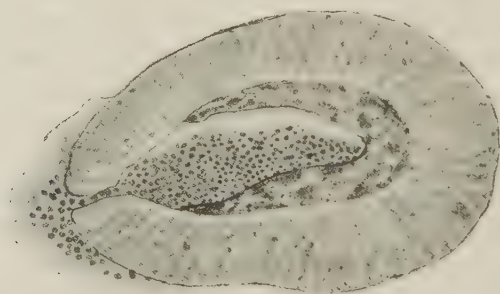


FIG. 1. — La couche médullaire transformée en partie en une cavité hémorragique.

faisant partie de la couche médullaire. Dans toutes les zones, les cellules chromaffines ne sont pas d'ailleurs intactes : elles sont hydropiques avec leur protoplasma distendu et leurs noyaux multipliés. C'est là, d'ailleurs, les premiers signes de leurs altérations. Le nombre des noyaux, dans ce cas, peut atteindre 6-8; ils sont entassés les uns sur les autres, et toujours mal colorables.

On le voit, aucune de ces lésions n'est destructive en elle-même. La perte du parenchyme médullaire, encore que limitée, est l'œuvre, comme il a été dit, de la réaction inflammatoire de la charpente conjonctive et vasculaire.

Nous voulons dire deux mots sur la coloration des grains chromaffines par les teintures basiques. Etant donnée leur affinité pour les colorants nucléaires, on peut les rendre plus ou moins visibles par ces derniers. Mais cela très insuffisamment,



pour avoir une idée sur l'intégrité de ces grains; soit parce que ceux-ci sont peu aptes à fixer les colorants, soit qu'ils se décolorent facilement au moment de la déshydratation des coupes, même en employant l'acétone. C'est seulement par la méthode de Giemsa que nous avons pu obtenir quelques résultats appréciables, et dont il a déjà été question au début de cet exposé. Hâtons-nous d'ajouter que les préparations faites avec cette méthode ne sont jamais aussi instructives que celles des pièces chromisées, car dans ces dernières ce ne sont pas seulement les grains qui sont révélés, mais toute trace de la substance chromaffine dissoute ou non.

Pour ce qui est des lésions de la corticale, dans la maladie que nous étudions, elles sont à peine marquées, du moins autant que notre technique peut nous permettre de l'affirmer. De petites portions de la corticale, égarées dans la médullaire, se trouvaient intactes au milieu des tissus lésés, alors que des îlots de cellules chromaffines enclavées dans la corticale étaient toujours manifestement altérés.

*Lésions des surrénales provoquées par le « Spir. Duttoni ».* Si ces spirochètes ne sont pas très virulents, ils ne tuent pas les souris par inoculation intrapéritonéale. Ils provoquent chez elles, on le sait, une légère infection passagère de quelques jours, et après une ou deux rechutes, les souris finissent par guérir. Il n'est pas rare cependant, de les voir succomber à la cachexie. On a donc tout le loisir nécessaire pour étudier les lésions des surrénales en pleine infection, ou dans la période cachectique. C'est dans cette période, ou immédiatement après les rechutes, que les altérations des organes se sont montrées le plus étendues.

Comme lésions secondaires importantes; nous avons à signaler la très forte congestion des sinus intertrabéculaires. Ces espaces, distendus d'une façon exagérée, sont deux à trois fois plus larges qu'à l'état normal. Les travées médullaires comprimées, amincies, sont rupturées en plusieurs points; d'où la formation de nombreuses flaqes sanguines, qui, s'unissant entre elles, peuvent transformer toute la couche médullaire en une cavité unique (fig. 1). Souvent on peut voir celle-ci communiquer avec des nappes hémorragiques extérieures ou par

l'intermédiaire de la veine surrénale dilatée, ou par la rupture de la couche corticale (fig. 2). Chose curieuse, ces sinus très élargis peuvent être parfois totalement vides de sang. Toute la médullaire présente alors un aspect grossièrement spongieux, dont on explique difficilement la formation.

Cette hémorragie est donc fatale pour la partie la plus importante de l'organe, et par ce processus on peut rapprocher l'infection que nous étudions de la plupart des cas de toxoinfection, dont la scarlatine et la diphtérie sont les plus typiques. Il est donc à peine nécessaire d'ajouter que, dans les cas graves de spirochétose des souris, les troubles généraux,

et, peut-être même, le dénouement fatal doivent être attribués aux altérations hémorragiques des surrénales.

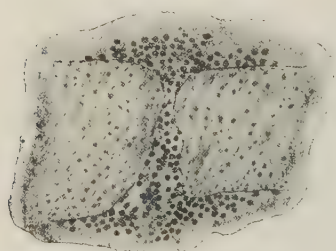


FIG. 2. — Rupture de la corticale à la suite d'hémorragie.

Les lésions parenchymateuses de la médullaire des souris infectées, comme dans le cas des chiens piroplasmés, sont caractérisées par la multiplication et l'hypertrophie des noyaux, l'état hydropique et vacuolaire du protoplasma des cellules sécrétrices.

Dans les pièces bichromatées, on voit que ces cellules ont perdu leur aspect finement granuleux. Elles sont pâles, à peine jaunâtres, plutôt d'une couleur saumonée, et, en outre, bourrées de noyaux difficilement colorables.

A un degré plus avancé du processus, le réticulum du cytoplasma est rupturé, vide de granulations, parfois même tout à fait déchiqueté. Les noyaux en nécrose, dépourvus de leurs réseaux chromatiques, sont réduits à leurs membranes d'ailleurs très épaissies, et fortement teintées (fig. 3).

Comme on le voit, ces lésions graves des cellules parenchymateuses ne sont pas dues cette fois à la réaction du tissu conjonctif, celui-ci n'étant que peu altéré, mais à l'action du parasite ou de ses substances solubles qui atteignent directement la cellule et provoquent sa dégénérescence. Jusqu'à quel point ces lésions sont-elles fatales à l'organe, et d'abord sont-elles susceptibles de rétrocéder à la longue? Les souris infectées

meurent en grande partie; les cas de guérison complète sont rares.

Dans la piroplasmose du chien, nous avons noté l'état d'apparence normal de la corticale. Nous n'en dirons pas autant en ce qui concerne les souris infectées par *Spir. Duttoni*. Il semble que la corticale par simple voisinage participe aux troubles histologiques médullaires. Dans les infections graves comme dans les infections bénignes, une réaction corticale périmédullaire est constante. Elle varie seulement dans sa modalité.

Dans les cas légers, elle est caractérisée par le boursofflement des cellules de la couche la plus interne de la corticale, c'est-à-dire de la zone appelée réticulaire, et cela sur 4-5 rangs à partir de sa limite centrale. Les noyaux de ces cellules, très vivement colorés, sont à tel point grossis de volume qu'à un faible grossissement on croit à l'existence autour de la médullaire d'une intense invasion leucocytaire (fig. 4). Cependant, il n'en est rien. A un examen avec un fort objectif, on voit de suite qu'il s'agit des noyaux des cellules fixes, très hypertrophiés (2-3 fois) qui ont fixé vivement le colorant. Une partie de ces noyaux sont en pycnose, et apparaissent comme des petits disques compacts. On en voit, en nombre diminuant, jusqu'à la couche glomérulaire qui paraît tout à fait saine. Ici, nous devons rappeler qu'à l'encontre de l'assertion de Minervini, selon laquelle, chez les rongeurs, les trois zones de la corticale ne seraient pas distinctes, chez les souris tout au moins, cette assertion ne correspond pas à la réalité.

Nous expliquons cette réaction périmédullaire de la corticale, qui ne dérive assurément pas de l'action directe des parasites en cause, mais plutôt par l'irritation spéciale exercée par les parties médullaires très altérées, à la manière d'un foyer d'inflammation sur les tissus environnants.

Jusqu'ici, il n'a été question que des cas bénins. Dans les cas très graves, toute la zone réticulaire est le siège d'un mouve-

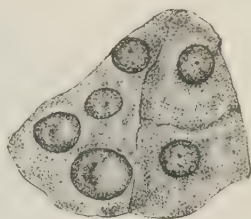


FIG. 3. — Trois cellules de la médullaire; deux à droite peu altérées, l'autre à gauche en nécrose, avec 4 noyaux dont un normal (col. par la méthode de Giemsa) 1×500.



ment inflammatoire et dégénératif très accusé. Au milieu des capillaires distendus de la région, on trouve les travées gonflées, contournées, entourées d'une mince couche de tissu conjonctif devenu très visible. La section de ces travées en boudin apparaît comme des îlots de cellules isolées, simulant grossièrement un aspect glandulaire que beaucoup d'auteurs ont pris pour un adénome en formation. Tout dernièrement, A. Goldschmidt (1910), en étudiant les lésions des surrénales de l'homme dans différents cas de maladies, insiste sur cette

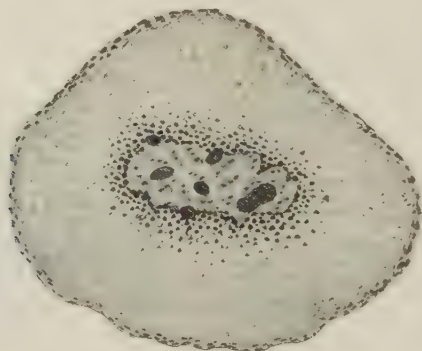


FIG. 4. — Réaction des cellules corticales autour de la médullaire très altérée; les parties foncées de la médullaire sont celles qui ont fixé le bichromate et qui sont saines.

particularité tissulaire en l'interprétant comme une néoplasie. En réalité, ce ne sont là que des cellules trabéculaires très altérées, plus grosses, plus claires qu'on ne les observe d'habitude.

Elles peuvent d'ailleurs être plus lésées et se présenter comme d'immenses placards cellulaires en pleine dégénérescence. Les limites disparaissent entre elles; leur protoplasma très vacuolaire est d'aspect homogène, et au contact du colorant du Giemsa il a pris une teinte bleu verdâtre, au lieu d'être d'un ton rosé. Ces placards contiennent de nombreux noyaux groupés en amas, les uns encore peu altérés, mais dont la plupart à l'état vésiculeux et franchement nécrosé.

Voilà donc une nouvelle forme de réaction de la corticale, et beaucoup plus sérieuse que celle mentionnée quelques lignes

plus haut. Nous sommes d'avis qu'avec de tels désordres histologiques, ajoutés à ceux de la médullaire, les troubles fonctionnels des surrénales doivent être considérables. Il est vrai que la physiologie de la couche corticale n'étant pas encore établie, on peut faire des réserves sur les conséquences de ses altérations pathologiques. En tout cas, il est très vraisemblable qu'elle ait un rôle autrement intéressant que la production des substances lipoides, ainsi qu'il est admis un peu partout, et nous pensons avec J. Wiesel qu'elle peut être « une glande à sécrétion interne d'une importance vitale pour l'organisme ».

Quoi qu'il en soit, l'infection à *Spiroch. Duttoni* chez les souris s'est montrée, au point de vue des lésions surrénales, la plus grave des trois maladies à protozoaires que nous avons choisies pour nos études.

*Lésions des surrénales, provoquées par Tr. Brucei.* — Nous avons très peu à dire sur les altérations corticales et médullaires provoquées chez la souris par le *Tr. du Nagana*. En dehors de l'hyperémie et de l'hypertrophie des organes, plus accusées que dans les deux cas précédents, il n'y a rien à signaler.

Dans les coupes (chromisées), nous trouvons la série d'altérations histologiques, se rapprochant plus ou moins de ce que nous avons observé dans la médullaire des chiens piroplasmés ; pour éviter les redites nous ne les mentionnerons pas. Notre attention a été surtout attirée par le profond épuisement des cellules chromaffines. On en trouve rarement qui ait gardé sa couleur jaune d'ocre vive, et son aspect granuleux.

L'absence de lésions plus graves est due, dans le cas présent, à l'évolution très courte de l'infection à laquelle nous avons soumis nos souris, infection qui, on le sait, ne dure pas plus de quatre à cinq jours, l'incubation comprise.

En serait-il de même dans les trypanosomiasés à longue évolution, comme par exemple dans la maladie du sommeil chez l'homme ? La prostration des sujets atteints dans cette affection, leur état comateux final, et tant d'autres signes de

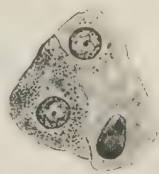


FIG. 3. — Deux cellules de la médullaire du chien ; celle de gauche peu altérée, celle de droite hydropique, vacuolaire, dépourvue de granulations (color. par la méthode de Giemsa)  $1 \times 500$ .

dépression nous autorisent à les rapporter, au moins en partie, aux troubles sécrétoires des capsules surrénales.

En résumant les résultats de ces investigations, nous pouvons avancer que, dans les maladies à protozoaires, les lésions parfois très graves des surrénales sont localisées à la médullaire; elles ne paraissent nullement différer de celles constatées dans les infections bactériennes, et n'ont aucun caractère spécial.

\* \* \*

Pendant que ce travail était à l'impression, nous avons eu l'occasion d'examiner les capsules surrénales de deux singes inoculés avec des trypanosomes humains de différentes origines par M. F. Mesnil (1), qui a bien voulu les mettre à notre disposition. Nous l'en remercions vivement.

Les résultats de cet examen corroborent en tous points ceux que nous avons obtenus chez les souris blanches inoculées avec le *T. de Bruce*. Chez les singes, les lésions sont plus manifestes et plus étendues.

L'un des singes (*Macacus rhesus*) avait subi à plusieurs reprises des inoculations de *T. gambiense* et en était guéri; mais il avait succombé à une infection ultérieure par le *T. rhodesiense*. Cette dernière maladie avait duré vingt-sept jours.

Les altérations que présentèrent les surrénales de ce singe ne différaient pas notablement de celles que nous constatons chez les souris infectées par le *T. Brucei*. Elles étaient localisées surtout à la couche médullaire, se caractérisant par l'épuisement des cellules chromaffines. Les noyaux de celles-ci, parfois très hypertrophiés, jusqu'à atteindre le double de son volume normal, contenaient d'énormes vacuoles bien limitées et pleines d'un liquide clair, mal colorable. On trouvait le protoplasma des cellules trouble, hydropique, ou réduit de volume et parsemé de petites cavités vides.

Mais ce qui attira notre attention d'une façon particulière, ce fut l'existence dans les cellules de la corticale (zone fasciculée),

(1) Sur les affinités du *Tryp.* humain de Rhodesia et du *Tryp. gambiense*, par F. Mesnil et J. Ringenbach. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXI, p. 271.



de corpuscules à réaction colorante basique, tels que ceux qui ont été décrits par un grand nombre d'auteurs, dans le même organe, mais à la suite d'infections microbiennes (diphthérie, scarlatine, streptococcie, etc.), ou de nature encore indéterminée comme la rage. Dans ce dernier cas, on est allé même jusqu'à les considérer comme des corpuscules de Negri.

Chez le singe en question, ces inclusions se trouvaient dans les cellules de la corticale en grand nombre, et en forme de virgules, de courts bâtonnets ou simplement de sphérules de petites dimensions (voir fig. 6). Elles sont d'autant plus nombreuses et volumineuses que le noyau de la cellule est plus pâle et plus altéré.



FIG. 6. — Inclusions cellulaires dans la zone fasciculée (singe n° 1).

Le second singe, aussi un *Macacus rhesus*, était inoculé avec du *T. rhodesiense*, et il est mort en dix jours et demi. L'incubation avait duré moins de trois jours, et l'animal avait présenté une infection très intense. Malgré cela, les lésions des surrénales n'étaient pas plus accusées que chez le premier Macaque, sauf le fait qu'on ne trouvait point d'inclusions cellulaires. Des inoculations faites par le Trypanosome humain sur les souris blanches, n'ont pas montré non plus trace de corpuscules intracellulaires. Dans ce cas, il est impossible d'attribuer leur formation à l'action des parasites inoculés, et, en reprenant le protocole d'autopsie du premier singe dans la communication de MM. Mesnil et Ringenbach, nous avons vu que le sang du cœur avait donné lieu à des cultures de streptocoques. Jusqu'à plus ample informé, nous sommes donc porté à croire que les protozoaires ne provoquent pas d'inclusions cellulaires dans les surrénales, et c'est peut-être là une des caractéristiques des lésions qu'ils y produisent.

## INDICATIONS BIBLIOGRAPHIQUES

- BERNARD et BIGARD. — *Journ. de Phys. et de Path.*, 1902.
- BOGOMOLEZ. — Zur Frage über die Veränderungen der Nebennieren bei exper. Diph. *Beiträge z. pathol. Anatomie und allgem. Patholog.*, Bd XXXVIII.
- CHARRIN et LANGLOIS. — *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1894-1896.
- COMBY (J.). — Insuffisance surrénale dans les maladies infectieuses. *Arch. de méd. des Enfants*, 1910 (revue générale).
- CIACCIO. — *Virchow's Arch.*, 1910, Bd CXIX.
- COMEESATTI. — Specifiche Reaction des Adrenalins. *Münch. med. Wochenschr.*, 1908, n° 37.
- DOPTER et GOURAUD. — *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1904.
- GOLDSCHMIDT (A.). — Beiträge z. Kenns. der Pathol. des menschlichen Nebennieren. *Deutsch. Arch. f. klinische Medizin*. Bd XCVIII.
- GOLDZIEHER et MOLNAR. — Beiträge z. Frage der Adrenalinämie. *Wiener klin. Wochenschr.*, 1908, n° 7.
- HONNES. — *Deutsch. Arch. f. klin. Medizin.*, 1910.
- KARAKASCHEFF. — Beiträge z. pathol. Anatomie der Nebennieren. *Zieglers Beiträge*, 1904, XXXVI.
- KOHN. — Chromaffine Zellen chrom. *Organe Prager med. Wochenschr.*, 1902, n° 27.
- LOESCHKE. — Verhalten der Nebennieren bei Infektionskrankheiten. *Münch. med. Wochenschr.*, 1910, n° 1 (C. R.).
- LUKESCH. — Funktionsstörung der Nebennieren bei Allgemeinerkrankung. Intoxication und Infection. *Wien. klin. Wochenschr.*, n° 14, 1905.
- MARCHAND. — *Verhandl. d. deut. pathol. Ges.*, 1910.
- NEUSSER et WIESEL. — *Die Erkrankung der Nebennieren*, 2 Aufl. Wien, 1910.
- OPPENHEIM et LOEPER. — Lésions des capsules surrénales dans quelques infections aiguës. *Arch. de Méd. expér. et d'Anatomie pathologique*, t. XIII, 1901.
- Lésions des glandes surrénales dans quelques intoxications expérimentales. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1902-1903.
- PIRONE. — Sur les altérations de l'hypophyse et de la surrénale dans la rage. *Arch. de Méd. expér. et d'Anatomie pathologique*, 1911.
- ROGER. — *Presse médicale*, 1894.
- ROUX et YERSIN. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889.
- SCHMORL. — *Münch. med. Wochenschr.*, 1910, n° 49.
- SERGENT. — *Presse médicale*, 10 juillet 1909.
- SIMONS. — Ueber Nebennieren Blutungen. *Virchow's Arch.*, Bd CLXX.
- STRUBELL. — *Berl. klin. Wochenschr.*, 1910, n° 12.
- STRICT (Wan der). — Lésions anatomo-pathologiques produites par le microbe de la peste. *Bull. Acad. Belgique*, 1897.
- THOMAS. — Ueber die Nebennieren des Kinds und ihre Veränderungen bei Infektionskrankheiten. *Beiträge z. pathol. Anatomie und z. allg. Pathol.*, 1911. Bd. L, II. 2.
- ZENFROGNINI. — *Deutsche med. Wochenschr.*, 1901.

## SUR UNE GRANDE ÉPIZOOTIE DE RAGE

par A. CARINI

(Institut Pasteur de São Paulo.)

Ce n'est pas la première fois que l'on signale des épizooties de rage parmi les animaux domestiques; dans la littérature, on en trouve mentionnées plusieurs(1); toutefois, à notre connaissance, aucune des épizooties signalées jusqu'à présent n'a eu assez d'importance pour arriver à détruire presque complètement la population bovine et équine de la région infectée, et à menacer très sérieusement l'élevage de tout un pays, comme cela a été le cas pour celle que nous avons eu l'occasion d'observer il y a quelques mois.

Au commencement de février dernier, nous avons été invité par le ministre de l'Agriculture de Saint-Paul, à nous rendre au plus tôt dans l'État de Santa-Catherina, pour étudier une maladie qui sévissait parmi les vaches et les chevaux.

Il importait de fixer rapidement le diagnostic de cette maladie, car les éleveurs de Saint-Paul étaient très alarmés par le fait que, dans un rapport qu'on venait de publier, un vétérinaire, chargé officiellement de l'étude de l'épizootie, avait affirmé qu'il s'agissait de peste bovine (2).

(1) En particulier, ces *Annales* (t. II, p. 158) ont longuement analysé les intéressants rapports de Cope et Horsley sur une épizootie de rage qui a sévi en 1886-1887 sur les daims du parc de Richmond, en Angleterre, et publié le travail d'Adami (t. II, p. 658), sur une autre épizootie de daims du comté de Suffolk.

(2) Comme il était facile de le prévoir, l'alarme ne tarda pas à s'étendre aux républiques voisines, qui menaçaient de prendre des mesures très sévères pour empêcher l'introduction de la maladie dans leur pays. Heureusement, il a été facile, même avant de fixer d'une façon sûre le diagnostic de rage, de démontrer qu'il ne s'agissait pas de peste bovine, et cela à cause de l'absence des lésions anatomo-pathologiques caractéristiques de la peste bovine. En outre, les chevaux étaient atteints de la maladie, tandis qu'ils sont naturellement réfractaires à la peste bovine; et finalement, l'inoculation des animaux atteints ne reproduisait pas la maladie chez les sujets sensibles. Actuellement, deux Commissions de vétérinaires, l'une envoyée par le gouvernement de l'Argentine, l'autre par celui de l'Uruguay, se trouvent sur place pour se rendre un compte exact de la nature de l'épizootie et pour suivre de près les mesures mises en pratique pour l'éteindre.



La maladie en question régnait dans l'État de Santa-Catherina depuis quelques années déjà. Elle avait commencé, on ne sait pas bien comment, dans une petite localité du littoral, et de là elle s'est propagée peu à peu dans les régions avoisinantes. Elle montra toujours peu de tendance à se propager; aujourd'hui, la zone infectée s'étend sur un rayon d'à peine une vingtaine de kilomètres et comprend une bande située entre la sierra et la mer, au fond de l'île de Santa-Catherina, où se trouve Florianopolis (ancienne Desterro), capitale de l'État.

Les communes les plus ravagées sont celles de Bignayù (d'où le nom d'épizootie de Bignayù), S. José, Santo-Amaro, Palhoça, S. Pedro, etc. Les pertes ont été assez considérables; faute de statistiques exactes, il faut se fier aux informations recueillies, mais on peut calculer sans crainte d'exagérer que près de 4.000 bovidés et 1.000 chevaux ont péri. La population de ces régions, composée pour la plupart de petits propriétaires, pauvres cultivateurs, s'est trouvée ainsi privée des animaux destinés aux travaux des champs et aux transports des produits agricoles. Il s'agit d'animaux qui ne sont pas stabulés, mais qui, le travail fini, sont abandonnés dans les pâturages.

La maladie se présente sous deux formes cliniques bien différentes : dans l'une prédominent les symptômes de paralysie (forme paralytique); dans l'autre, au contraire, ceux d'excitation (forme furieuse). Les symptômes sont les mêmes chez les bovidés et chez les chevaux. La forme paralytique est de beaucoup la plus fréquente. Les animaux atteints se montrent tristes, avec les poils hérissés et ne ruminent plus régulièrement.

Ces symptômes ne durent que deux ou trois jours; apparaît ensuite un certain désordre dans la marche, spécialement dans le train postérieur; les animaux sont agités, anxieux, ne trouvant pas de repos ni debout ni couchés.

La paralysie s'accroît, la marche devient difficile et même impossible; les animaux tombent et ne peuvent plus se relever.

Dans la forme furieuse, on note, dès le commencement, des phénomènes d'excitation; les animaux atteints, en proie à une

forte agitation, s'éloignent d'abord des autres; après, ils deviennent agressifs et cherchent à attaquer les hommes et les autres animaux: on note des élévations de température, mais la fièvre est loin d'être constante.

On a observé plusieurs fois une hyperesthésie cutanée et on a vu les animaux se frotter jusqu'au sang et même se gratter et se mordre jusqu'à déchirer la peau et la chair.

La durée totale de la maladie est à peine de quelques jours et dans les deux formes la mort arrive en complète paralysie.

Tous les animaux atteints meurent, et les paysans des régions infectées le savent si bien, qu'ils n'essayent plus aucun remède, parce qu'ils les ont vus tous échouer. La viande et la peau ont été souvent utilisés et nous n'avons pas eu connaissance d'inconvénients.

Nous avons pratiqué l'autopsie de trois vaches qui venaient de mourir et qu'on avait sacrifiées au dernier moment, sans rencontrer des lésions macroscopiques dignes d'être mentionnées; nous avons trouvé simplement une hyperémie des méninges et de tout le système nerveux central.

La symptomatologie nous a fait penser tout de suite à la rage, et nos soupçons étaient renforcés par le fait que, dans presque toutes les localités où nous avons rencontré des animaux malades, avait été signalée la présence récente de chiens enragés.

Afin de contrôler expérimentalement notre diagnostic, sur chaque animal, nous avons recueilli des morceaux de bulbe, de corne d'Ammon et de cervelet, dont une partie a été conservée dans la glycérine et l'autre fixée dans l'alcool et dans la formaline.

A notre retour, au laboratoire, l'examen des coupes nous montre chez tous les animaux examinés la présence de nombreux corpuscules de Negri bien caractéristiques, quelques-uns avec leurs formations internes bien visibles.

Sur les coupes des bulbes, on a pu voir aussi une infiltration très manifeste autour des vaisseaux capillaires, et une prolifération des cellules de la capsule endothéliale, comme on l'observe chez les animaux morts de rage.

Les inoculations sous-méningées pratiquées avec le système nerveux conservé dans la glycérine ont reproduit la rage chez

les lapins. mais, chose curieuse, nous n'avons pas réussi à déceler chez ces lapins, et non plus chez ceux du deuxième passage, la présence de corpuscules de Negri (1).

Il est bien curieux que cette épizootie ait pu régner pendant plusieurs années avec tant d'intensité, mais sa véritable nature ayant été méconnue, on a complètement négligé toutes les mesures sanitaires adéquates, spécialement celles de police canine.

Mais il y a encore une chose intéressante à noter à propos de l'épizootie de Bignayu, c'est que le nombre des chiens enragés observés dans la région ne paraît pas en proportion de celui des vaches et des chevaux atteints de rage, de sorte qu'il est probable que des animaux sauvages jouent le rôle de transmetteurs de l'affection. Ainsi, à S. Pedro d'Alcantara, plusieurs personnes dignes de foi nous ont assuré avoir vu, dans les pâturages, des chauves-souris, en plein jour, se lancer sur les bovidés et les mordre. Ces bovidés seraient tous morts quelque temps après.

Il aurait été intéressant de vérifier expérimentalement si vraiment ces chauves-souris étaient enragées et si elles peuvent en effet transmettre la rage, mais il ne nous a pas été possible de nous en procurer dans de telles conditions.

(1) Ce fait n'autorise d'aucune manière à mettre en doute notre diagnostic de rage; d'autant plus qu'à l'Institut Oswaldo Cruz de Manguinhos, on a fait aussi de nombreuses inoculations positives, et, en contrôlant notre diagnostic, on a constaté la présence des corpuscules de Negri dans le système nerveux des animaux inoculés expérimentalement. Il est, du reste, connu qu'on peut observer, quoique très rarement, des cas de rage bien établie où, malgré des recherches très minutieuses, on ne trouve pas de corpuscules de Negri.

## SUR

# LE MÉCANISME DE LA FERMENTATION ALCOLIQUE

PAR ALEXANDRE IEBEDEFF.

Faisant en 1908 (1) des recherches cynétiques sur la marche de la fermentation alcoolique, j'ai constaté que la décomposition du sucre et le dégagement de l'acide carbonique sont deux processus différents. En cherchant le produit intermédiaire qui devait se former, j'ai pu isoler l'éther d'un sucre avec l'acide phosphorique (2), précipitable par de l'acétone, pouvant donner des sels avec des métaux (3), qui traité par de la phénylhydrazine en solution neutre, a donné l'osazone de la formule  $C^{24}H^{21}N^6PO^+$ ; c'est-à-dire une combinaison de la phényldrazine avec l'osazone de l'éther d'un hexose avec l'acide phosphorique. Ainsi a été établie pour la première fois la nature du sucre faisant partie de cet éther, lequel avait été isolé en 1907 par Yvanoff (4), et plus tard par Joung (5). Dans ce mémoire, j'ai établi en outre que le glucose et le lévulose forment le même éther. Trois mois plus tard a paru le mémoire de Joung (6) dans lequel il est arrivé aux mêmes conclusions que moi, mais il n'a pu obtenir aucune osazone. D'après lui, la composition de l'éther devrait être  $C^6H^{10}O^4(PO^4R)^2$ . Poursuivant l'étude de l'osazone que j'avais isolée, j'en ai confirmé la composition dans ma première communication (7) sur le phosphate de l'hexose, mais j'ai émis des doutes, que la composition de l'éther soit d'une molécule de sucre pour deux molécules de  $H^3PO^4$ , n'admettant qu'une seule possibilité pour indiquer la différence entre les deux formules établies par moi et par Joung,

(1) *Biochem. Zeits.*, t. X, p. 454, 1902.

(2) *Loc. cit.*, t. XX, p. 114, 1909.

(3) *Loc. cit.*, t. XX, p. 124, 1909.

(4) *Zeits. f. physiol. Chem.*, t. L, p. 281, 1907.

(5) *Proceed. of. the Chem. Soc.*, t. XXIII, p. 63, 1907.

(6) *Proc. Roy. Soc. B.*, t. XXCI, p. 528, 1909.

(7) *Loc. cit.* t. XXVIII, p. 213. 1909.



c'est que sous l'action de la phénylhydrazine une molécule de  $\text{H}^3\text{PO}^1$  soit séparée. Dans le même mémoire j'ai constaté la formation des hydrazones avec phénylhydrazine et p-brom-phénylhydrazine, mais je n'ai pu les recristalliser pour l'analyse. En continuant l'étude j'ai pu, traitant la phénylhydrazone de l'éther avec de la formaldéhyde, obtenir l'éther même qui m'a donné le sel de Ca de cette composition  $\text{C}^6\text{H}^5\text{O}^2\text{CaPO}^4$ . D'autre part, j'ai pu recristalliser p-brom-phénylhydrazone et m'assurer qu'il contenait deux molécules d'acide phosphorique pour une d'hexose (1) et que la formule de l'éther devait être celle donnée provisoirement par Joung :  $\text{C}^6\text{H}^{10}\text{O}^4(\text{RPO}^4)^2$ .

Dans le mémoire dont je viens de parler, j'ai mentionné, en outre, que toutes mes tentatives d'isolement d'un éther pouvant se former pendant la fermentation de la dioxyacétone ont échoué (2). Les expériences que j'ai reprises de nouveau avec du suc de levure obtenu d'après ma méthode (3), m'ont donné des résultats inattendus qui jettent une lumière nouvelle sur la première phase de la fermentation alcoolique et dont je rends compte ici.

Pour ces expériences, je me suis servi cette fois encore de la dioxyacétone préparée d'après l'excellente méthode de G. Bertrand (4); je n'en décrirai brièvement que trois, les autres étant analogues.

#### FERMENTATION DE LA DIOXYACÉTONE.

EXP. I. — J'ai pris pour cette expérience trois fioles d'Erlenmeyer (A, B et C), et j'ai mis dans chacune 20 cent. cubes de suc plus 0,2 cent. cube de toluène. J'ai ajouté en outre à la fiole A, 1 gramme de saccharose; à la fiole B, 1 gramme de dioxyacétone, et à la fiole C, 1 gramme de celui-ci et 0 gramme 5 de  $\text{Na}^1\text{H}^1\text{P}^1\text{O}^4$ . Les fioles ont été mises au thermostat à 25 degrés. Les quantités de  $\text{CO}^2$  dégagé en quarante-huit heures étaient les suivantes : (A) 0,390; (B) 0,385, et (C) 0 gramme 295.

EXP. II. — Mêmes conditions, six fioles (A, B, C, A'B'C'), contenant chacune 20 cent. cubes de suc ont été chargées respectivement de 2, 3 et 4 grammes

(1) Ces expériences feront l'objet de ma deuxième communication sur « l'éther phosphoré de l'hexose », qui paraîtra prochainement.

(2) *Loc. cit.*, p. 214.

(3) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, séances des 3 janvier et 24 avril. *Bullet. Soc.*, t. IX-X, ch. iv, p. 76, 411, 672, 744 (1911).

(4) *Ann. de Chim. et de Phys.*, 8e, t. III, p. 181, 1904.

de dioxyacétone (A, B et C) et de 2, 3 et 4 grammes de saccharose (A' B' et C'). Quantités de  $\text{CO}^2$  dégagé en trois jours : A — 0 gramme 49, B — 0 gramme 52, C — 0 gramme 63 ; A' — 0 gramme 90, B' — 1 gramme 12, C' — 1 gramme 44.

On constate que les solutions de dioxyacétone à la concentration de 5 p. 100 fermentent aussi bien que les solutions de saccharose ; au-dessus de 5 p. 100, une moitié seulement de la dioxyacétone entre en fermentation. Ces résultats sont beaucoup plus favorables que ceux obtenus par Buchner et Meisenheimer (1), parce qu'ils n'ont pu faire fermenter qu'une solution contenant 2 p. 100 de dioxyacétone. Au-dessus de cette concentration les quantités de l'acide carbonique dégagé étaient presque les mêmes qu'avec la solution à 2 p. 100. En outre, ils ont opéré dans les conditions artificielles, en concentrant le suc dans le vide et en ajoutant à celui-ci de la coenzyme (suc bouilli) concentrée.

#### ISOLEMENT DE L'ÉTHÉR PHOSPHORÉ.

Exp. III. — 60 cent. cubes de suc, plus 3 grammes de dioxyacétone, plus 2 grammes de phosphate bisodique et 1 gramme de phosphate monosodique ont été mis dans une fiole comme ci-dessus et, après la dissolution des substances ajoutées, l'acide phosphorique précipitable a été dosé. La teneur en  $\text{P}^2\text{O}^5$  était de 1 gr. 1907. En une heure vingt-cinq minutes la fiole a dégagé 0,195 gramme de  $\text{CO}^2$ . La teneur en  $\text{P}^2\text{O}^5$  était de 0,5292 gramme, c'est-à-dire que 0,6615 gramme sont rentrés dans une combinaison organique. La fermentation a été ensuite interrompue par l'addition au suc en fermentation de 4 volumes d'alcool. La masse a été laissée une nuit, ensuite filtrée et le résidu du filtre pressé. Le filtrat a été concentré dans le vide et traité ensuite par de la phénylhydrazine à froid. L'osazone formée, en lamelles recristallisées 5 fois dans de l'alcool dilué, avait comme point de fusion 131 degrés. Le dosage de l'azote a donné pour N — 20,70 p. 100.

Calculé pour glycérosazone N — 20,82 p. 100.

L'oxyme obtenue d'après Pilotty et Ruf (1) avait le point de fusion 82 à 83 degrés.

On voit que le filtrat contenait encore de la dioxyacétone.

Le résidu pressé était laissé une heure avec 100 centimètres cubes d'eau, ensuite filtré et pressé à nouveau. Cette opération a été répétée deux fois. Les filtrats réunis ont été concentrés dans le vide jusqu'à 30 centimètres cubes et on y a ajouté un

(1) *Ber. d. Ch. Geiss.*, t. XLIII, p. 1773, 1910.

(2) *Ber. d. Ch. Geiss.*, t. XXX, 1656, 1897.

volume égal d'acétone. Aussitôt après l'addition, une couche de liquide épais apparut au fond du flacon. Après avoir laissé reposer le tout une nuit, on a décanté et précipité le sirop resté par une solution d'acétate de plomb. Le précipité lavé par une solution faible d'acétate de plomb, jusqu'à ce que le filtrat soit incolore, a été décomposé par  $\text{H}^2\text{S}$ . Le filtrat traité par de la phénylhydrazine a donné l'osazone qui, recristallisée dans l'alcool à 85 p. 100 (on en a obtenu  $1/2$  gramme) avait le point de fusion 150-152 degrés, c'est-à-dire identique à celui de l'osazone de l'éther qui se forme pendant la fermentation du saccharose.

Les 60 centimètres cubes de suc témoin ont été traités absolument de la même façon, mais aucune osazone ne s'était formée. Une solution de 0 gramme 6 de dioxycétone, de 0 gramme 4 de  $\text{Na}^3\text{HP}^4\text{O}$  et de 0 gramme 2 de  $\text{NaH}^2\text{PO}^4$  dans 40 centimètres cubes d'eau, laissée au thermostat pendant deux jours à 35 degrés et traitée après de la même manière, n'a donné que de la glycérosazone.

Calculé pour  $\text{C}^{24}\text{H}^{34}\text{N}^6\text{O}^7\text{P}$  : C — 52,75 ; H — 5,68 ; N — 15,38 ; P — 5,68.

Trouvé : C — 52,75 ; H — 5,81 ; N — 15,43 ; P — 5,84.

En outre, j'ai analysé le sel de Ba de l'éther qui se forme pendant la fermentation du saccharose (a) et de la dioxycétone (b), après l'avoir débarrassé de l'acide phosphorique par de la liqueur ammoniaco-magnésienne.

Calculé pour  $\text{C}^6\text{H}^{10}\text{O}^4(\text{PO}^4\text{Ba})^3$  : C — 11,75 ; H — 1,64 ; P — 10,12 ; Ba — 44,99.

Trouvé pour (a) : C — 11,78 ; H — 1,67 ; P — 10,18 ; Ba — 44,70.

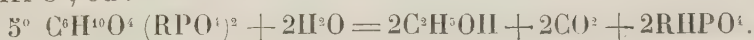
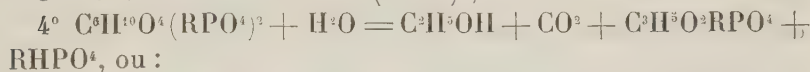
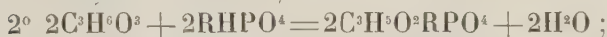
Trouvé pour (b) : C — 11,51 ; H — 1,89 ; P — 10,42 ; Ba — 44,76.

On voit que les deux formules  $\text{C}^2\text{H}^5\text{O}^2\text{PO}^4\text{Ba}$  et  $\text{C}^2\text{H}^{10}\text{O}^4(\text{PO}^4\text{Ba})^2$  étant identiques, ce n'est que grâce aux osazones et hydrazones que j'ai obtenues qu'on peut identifier la nature du sucre engagé dans cette combinaison, parce que, en hydrolysant l'éther par ébullition prolongée (Joung)(1) ou par de l'acide et de l'alcali (Lebedeff), le triose, s'il en faisait partie, serait sûrement détruit. J'ai déjà démontré que le produit du glucose et du lévulose forme la même osazone et j'ai acquis la certitude

(1) *Loc. cit.*, p. 214, 1910.

que le produit du mannose se comporterait de même, ce qui a été confirmé plus tard par Joung (1).

D'après les résultats de mes expériences, on peut affirmer que, quel que soit le sucre fermentescible, le même éther se produit au commencement de la fermentation. Ce fait ne peut être expliqué que si l'on admet que l'hexose soit décomposé au début jusqu'au triose qui, se combinant à son tour avec de l'acide phosphorique, donne un éther  $C^3H^5O^2RPO^4$  qui se condense immédiatement en  $C^6H^{10}O^4 (RPO^4)^2$ , et ce n'est que pendant l'hydrolyse de l'éther que l'alcool et l'acide carbonique se forment. La première phase de la réaction — l'hydrolyse de l'éther — s'effectue avec une vitesse mesurable, mais la seconde — décomposition de l'hexose (très probable d'un acrose) par l'alcoolase — a lieu avec une telle vitesse, qu'aucun des produits intermédiaires, s'il s'en forme, ne peut être décelé tant que l'on n'a pas trouvé un catalyseur spécifique négatif pour retarder cette phase de la réaction. Tous ces faits relatés plus haut, ainsi que les considérations théoriques, font admettre que la fermentation alcoolique s'effectue d'après le schéma suivant :



Je me réserve de continuer ces recherches ainsi que les recherches analogues avec l'aldéhyde glycérique.

(1) *Loc. cit.*, p. 177, 1911.



# **LE BACILLUS PROTEUS**

## **SA DISTRIBUTION DANS LA NATURE**

par CH. CANTU.

(Laboratoire de M. Metchnikoff.)

L'objet de ce travail est l'étude du proteus et de sa distribution dans la nature, particulièrement dans ses rapports avec l'homme.

Nous en avons fait la recherche dans l'air, l'eau, le sol ; dans des substances alimentaires variées que l'on consomme à l'état cru, dans les selles humaines, normales et pathologiques, dans les matières fécales des animaux, dans les fumiers, sur les mouches, etc. : ces données sont réunies plus loin en un tableau.

La méthode qui m'a donné les meilleurs résultats, lorsque le proteus se trouvait en petit nombre, est celle de Metchnikoff.

On ensemence par piqûres dans de la gélatine profonde, à 10 p. 100, un peu de la substance à examiner ; après quelques jours, à la température de la chambre (20 degrés), si le proteus existe, la gélatine commence à se liquéfier. En diluant dans du bouillon une ou deux gouttes de cette gélatine fondue et en faisant des dilutions dans de nouveaux tubes de gélatine coulés ensuite dans des boîtes de Petri, on isole très aisément le proteus.

Pour aller plus vite, au lieu d'isoler les germes dans cette seconde gélatine, on peut faire usage de la gélose inclinée.

Quand on dépose une ou deux gouttes de la dilution dans l'eau de condensation, en ayant soin de ne pas toucher la surface de la gélose, et en maintenant toujours le tube droit, on remarque, après douze à vingt heures d'étuve à 37 degrés, que l'eau de condensation se trouble et que la surface de la gélose commence à se recouvrir de bas en haut d'un enduit blanchâtre et nacré.

Grâce à sa grande mobilité, le proteus remonte facilement

et rapidement le long de la surface de la gélose et, au bout de peu de temps, on le trouve en général à l'état de pureté dans les parties les plus hautes, juste à la limite de la couche microbienne.

On prélève alors avec une anse une petite quantité de la partie supérieure de cette couche et on la dépose à nouveau dans l'eau de condensation d'un autre tube. Si dans ce cas la culture n'est pas encore pure, on n'a qu'à répéter la même manipulation.

Les milieux de culture employés sont les milieux ordinaires. On sait, en effet, que le proteus se développe dans tous les milieux, de préférence dans les milieux un peu alcalins.

Voici la technique que nous avons employée pour la recherche du proteus dans l'air :

Nous nous sommes servi de l'appareil suivant (V. fig. 1) :

Une éprouvette A est fermée par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous. Dans l'un de ces trous passe un entonnoir à long tube qui plonge dans de l'eau physiologique (10 centimètres cubes) et dont le haut est fermé avec de l'ouate. Dans l'autre trou est adapté l'extrémité d'un tube de verre courbé D, dont l'autre extrémité pénètre par un bouchon de caoutchouc dans l'éprouvette B. Ce bouchon est aussi percé d'un second trou de façon à laisser passer un tube de verre C qui descend jusqu'à quelques millimètres du fond de l'éprouvette. L'extrémité libre de ce tube, bouché avec de l'ouate, est mise en communication avec un aspirateur. L'appareil ainsi monté, est stérilisé à l'autoclave.

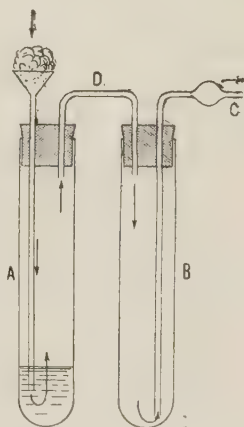


FIG. 1.

On le place dans l'air à étudier. On enlève de l'entonnoir le tampon d'ouate et on fait fonctionner l'aspirateur. L'air aspiré, pénétrant par l'entonnoir, vient se laver dans l'eau du tube A et y laisse tomber toutes les particules qu'il a entraînées. Après aspiration de quatre mètres cubes d'air, l'appareil est détaché de l'aspirateur. On souffle alors par le tube C pour faire remonter plusieurs fois le liquide dans le tube de l'entonnoir de manière à en laver les parois.

L'eau de l'éprouvette est centrifugée. On peut alors l'ensemencer.

L'air qui a servi aux expériences était prélevé, soit dans les laboratoires où l'on étudie le proteus, soit dans certains appartements de la rue de Vaugirard et du boulevard Pasteur.

Quant à la poussière, elle était prise sur des meubles de divers endroits, puis ensemencée directement dans de la gélatine, le bouillon et la gélose inclinée.

Nous nous sommes servi aussi des boîtes de Petri, contenant une couche de gélose ou de gélatine exposée à la poussière de l'air pendant une heure environ.

Cette poussière provenait du laboratoire ou des appartements mentionnés plus haut.

En ce qui concerne l'eau, nous avons examiné l'eau potable et l'eau prélevée dans les caniveaux. L'eau potable était traitée selon la méthode de Schueder. On ajoutait à deux litres d'eau placée dans une haute éprouvette, 20 centimètres cubes d'une solution d'hyposulfite de soude à 7,75 p. 100 et 20 centimètres cubes d'une solution de nitrate de plomb à 10 p. 100.

On agitait et on laissait au repos pendant une vingtaine d'heures. On décantait alors et le précipité était dissout dans 14 centimètres cubes de solution saturée d'hyposulfite; le liquide final était ensemencé.

L'hyposulfite et le nitrate de plomb, dans les proportions employées, n'exercent aucune action nocive sur le proteus.

Concurremment avec ce procédé, nous employions le suivant :

A 500 centimètres cubes de la même eau, on ajoutait 50 centimètres cubes du mélange suivant, préalablement stérilisé à l'autoclave : peptone et gélatine, à 10 ; sel marin, 5 grammes ; eau, 100 centimètres cubes. L'eau à examiner étant ainsi transformée en milieu de culture, était placée à l'étuve à 37 degrés et laissait pousser les germes qu'elle contenait.

L'eau des caniveaux des rues était centrifugée et le dépôt ensemencé.

La glace alimentaire, préalablement fondue à la température de 40 degrés, était traitée par la même méthode que l'eau potable.

Pour le lait, on en mettait 3 centimètres cubes dans 50 centimètres cubes de bouillon et, d'autre part, on ensemencait directement de la gélatine pour les plaques. Les échantillons de lait examinés provenaient des diverses crémeries de Paris. Certains échantillons étaient du lait pasteurisé ; d'autres provenaient directement de la ferme.

Nous avons examiné la pâte ainsi que la croûte des fromages, en faisant des émulsions qui étaient ensuite ensemencées.

Pour les saucissons crus, on a raclé d'une part la peau, d'autre part la chair. Pour les huîtres, on ensemait des raclures prélevées sur le corps du mollusque, avec un couteau stérilisé.

Une partie des selles (humaines, normales et diarrhéiques; animales; provenant des poules nourries, les unes de grain, les autres de viande) ont été émulsionnées et ensemencées.

On a ensemencé aussi de l'eau préalablement stérilisée, qui avait lavé la peau et de l'eau ayant servi à rincer la bouche.

De même pour le sol, on a fait des émulsions avec des échantillons prélevés à la surface et en profondeur dans divers jardins, en des points toujours à l'ombre.

	EXAMENS	RECHERCHES positives.	POURCENTAGE
Air . . . . .	100	0	0 »
Air du laboratoire . . . . .	90	1	1,11
Poussière d'appartement . . . . .	70	0	0 »
Poussière du laboratoire . . . . .	50	1	2 »
Eau potable . . . . .	80	1	1,25
Glace alimentaire . . . . .	90	0	0 »
Pain . . . . .	100	0	0 »
Lait . . . . .	200	7	3,5
Saucissons crus . . . . .	30	10	33,3
Beurre . . . . .	50	1	2 »
Fromages . . . . .	20	3	15 »
Bananes . . . . .	40	6	15 »
Melon . . . . .	30	7	23,3
Raisin . . . . .	104	0	0 »
Prunes . . . . .	86	0	0 »
Poires . . . . .	98	0	0 »
Cornichons . . . . .	50	1	2 »
Céleris . . . . .	40	7	17,5
Salades . . . . .	20	4	20 »
Viandes pourries . . . . .	22	22	100 »
Fumier . . . . .	25	20	80 »
Mouches d'appartement . . . . .	50	0	0 »
Mouches de fumier . . . . .	50	6	12 »
Selles humaines normales . . . . .	50	15	30 »
Selles humaines diarrhéiques . . . . .	40	16	40 »
Bouche . . . . .	40	5	12,5
Peau . . . . .	30	2	6,6
Excréments de poules, alimentation norm . . . . .	30	4	13,3
Excréments de poules, alimentation carnée . . . . .	30	20	66,6
Sol de jardin . . . . .	32	23	44,2



Quant aux mouches, elles ont été ensemencées directement dans le milieu de culture. Elles étaient prises dans le laboratoire, dans des appartements et près des fumiers.

Pour les fruits (poires, pommes, prunes, bananes, figues fraîches), l'écorce seulement a été examinée après avoir été raclée; les raisins (frais et pourris), les salades et les céleris ont été lavés dans de l'eau stérilisée et, dans cette eau, nous avons recherché le proteus, en précipitant et en centrifugeant.

#### TECHNIQUE

##### *Formes et caractères des cultures.*

Le nom de proteus donné par Hauser à ce microbe est très bien choisi. Sa taille, ses fonctions biologiques sont des plus variables. Par exemple, une de ses fonctions principales, la liquéfaction de la gélatine par une protéase, prend les aspects les plus divers. Ainsi, des échantillons qui, au premier ensemencement, liquéfiaient en doigt de gant, liquéfiaient au repiquage suivant, en cylindre ou en entonnoir.

En raison de cette variabilité, et pour éviter de se perdre dans des détails secondaires, on ne peut donner qu'un ensemble de caractères moyens qui, d'ailleurs, suffit pour identifier ce microbe. La forme comme les dimensions en sont très variables. Il présente tantôt la forme d'un coccobacille, tantôt celle d'un bâtonnet à bout arrondi, de 0.4 à 0.6  $\mu$  de largeur sur 1.25 à 3.5 de longueur. Souvent ces bâtonnets se trouvent réunis bout à bout et forment des filaments droits et hélicoïdaux. Cette dernière forme est plus fréquente dans les cultures en milieux liquides sucrés.

Le proteus est très mobile. Cette mobilité a son maximum dans les cultures âgées de douze à quarante heures, à la température de l'étuve; elle diminue ensuite et, après trois jours environ, le bacille est immobile. La température et la nature du milieu peuvent avoir une influence sur la mobilité. En effet, elle est plus grande en milieux glucosés. Ce microbe est recouvert de cils et ne produit pas de spores. Toutes les races de proteus que nous avons isolées se colorent avec toutes les cou-

leurs basiques d'aniline, et mieux encore si l'on fait intervenir un mordant.

Le proteus ne prend pas le Gram.

Il est anaérobie facultatif, mais aérobie de préférence. Il croît aussi, mais un peu lentement, à des températures relativement basses. La température la plus favorable paraît être de 25 à 37 degrés.

*Gélatine en plaques.* — Les colonies de proteus ont quelquefois un aspect très caractéristique. Après quarante-huit heures, à 20 degrés, petites colonies rondes, jaunâtres, presque transparentes, paraissant, à un grossissement moyen, grises et finement granuleuses. A la surface, elles donnent une petite tache à centre jaunâtre opaque et à bords hyalins, transparents et luisants. La périphérie prend un contour irrégulier et émet des prolongements d'abord peu nombreux qui vont en augmentant.

La colonie primitive forme au centre une masse opaque, visqueuse, entourée d'une zone filamenteuse. De la masse centrale partent, vers la zone périphérique, des prolongements de forme bizarre qui vont s'insinuer dans le milieu. Ce sont des prolongements plus ou moins longs, sinueux ou tortueux, parfois en tire-bouchon, de diamètre très irrégulier, le plus souvent de forme ovoïde. Ces prolongements, fréquemment fusiformes, sont unis à la colonie par un pédicule délié; quelquefois alors, ils arrivent à se séparer de la colonie et restent libres dans la gélatine.

Lorsqu'on ensemence le proteus dans la gélatine à 6 p. 100 et qu'on maintient la plaque à 22 degrés, on remarque que les prolongements sont quelquefois animés de mouvements bien évidents. Ils peuvent ainsi se déplacer lentement dans le milieu en s'éloignant de la colonie mère.

En peu de temps, toute la surface de la gélatine peut être ainsi recouverte de ces colonies aberrantes. La liquéfaction se fait alors très vite et la gélatine a une réaction alcaline et dégage l'odeur de putréfaction propre à ce microbe. Dans ce milieu, le proteus produit une plus grande quantité d'ammoniaque que dans les autres.

Si la gélatine n'est pas visqueuse, les mouvements ne sont pas appréciables.

Dans l'épaisseur de la gélatine, on peut voir, avant la liqué-

faction, des colonies rondes à contours nets et à centre quelquefois granuleux.

*Gélatine profonde.* — On observe d'abord, le long de la piqure, le développement d'une strie blanchâtre qui s'étale à la surface. Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, selon la quantité de substanceensemencée et selon la variété du microbe, la gélatine commence à se liquéfier de haut en bas. La forme de la liquéfaction est très différente, avec un même échantillon de proteus. Elle peut avoir la forme d'un entonnoir, d'un cylindre, ou d'un doigt de gant. Peu à peu, la gélatine devient fluide et trouble, des flocons blanchâtres se déposent au fond, et le liquide supérieur commence à s'éclaircir. L'éclaircissement complet ne se fait qu'au bout d'un temps très long et seulement pour certains proteus. Il faut noter que, dans les espèces d'origine animale, l'éclaircissement de la gélatine liquéfiée commence en général dans la zone moyenne et y reste quelquefois cantonné. On a alors une zone clarifiée, entre un fond et une surface troubles. Le dépôt floconneux, d'abord blanc, devient en vieillissant d'une couleur jaunâtre. D'autres fois, dans l'épaisseur de la gélatine profonde, autour de la piqure on voit se former de petites colonies blanchâtres. L'ensemble des colonies présente l'aspect de l'inflorescence du châtagner. La liquéfaction, dans ce cas, peut commencer sur deux points : autour de l'inflorescence et à la surface libre. Cette forme de colonies est fréquente pour les échantillons de proteus provenant des substances animales ou des selles, quand ils sont aux premières générations.

Lorsque le proteus est piqué dans de la gélatine concentrée (25 p. 100), il ne parvient pas à la liquéfier. Si, après l'avoir piqué successivement plusieurs fois dans le même milieu, on le transporte dans la gélatine à 10 p. 100, il a perdu la propriété de la liquéfier rapidement et la liquéfaction est pénible, irrégulière et tardive (elle demande par exemple un mois). La gélatine liquéfiée est très alcaline.

Cette propriété de liquéfaction est également affaiblie par une série de passages consécutifs sur la gélose. Sur la gélose ordinaire inclinée, quand le proteus estensemencé de la façon décrite plus haut, il fournit un enduit blanchâtre, nacré, visqueux.

Sur la gélose en plaques, les colonies ne présentent rien de caractéristique. En gélose profonde et glucosée, on observe un fort dégagement de gaz. Les cultures en milieux liquides ne présentent pas de caractères spéciaux. Le bouillon est troublé en douze à vingt-quatre heures ; jamais de voile à la surface, il se forme un dépôt blanchâtre au fond du tube, le liquide est fortement alcalin et il se produit de l'ammoniaque et de l'indol. Les flocons tombés au fond de l'éprouvette et qui, primitivement, étaient blanchâtres, deviennent jaunâtres ; en vieillissant, le bouillon prend la même couleur.

Les sucres sont attaqués par tous les proteus. Avec le lactose seulement, l'attaque n'est pas constante avec toutes les races et avec un même proteus. Les races isolées des viandes et, en général, des substances animales pourries, attaquent les sucres avec une violence qu'on ne retrouve pas dans les cultures de proteus isolées des végétaux : cette différence est vraie des premières cultures ; elle s'efface quand les proteus ont été réensemencés plusieurs fois et s'éloignent, pour ainsi dire, des conditions naturelles. Dans les tubes de liquides sucrés et tournésolés, la couleur disparaît dans le fond ; elle reparait si l'on insuffle de l'air chargé d'oxygène ; mais après plusieurs insufflations, elle cesse de réapparaître et le liquide reste décoloré ; la décoloration finit par gagner la surface.

Le bouillon glucosé et additionné de carbonate de chaux (1 gramme de carbonate de chaux pour 10 centimètres cubes) donne lieu à un dégagement de bulles qui forment à la surface une écume d'une épaisseur variable selon l'activité du proteus.

Dans l'eau peptonée, on observe le même trouble : la production des mêmes substances que dans le bouillon et la coloration jaunâtre des vieilles cultures. La production d'indol est plus forte avec les échantillons de proteus provenant des substances animales. Dans le bouillon contenant un petit cube d'albumine d'œuf coagulée, le proteus se développe très rapidement. Après cinq à six jours, l'albumine perd son opacité et devient transparente. Peu à peu, elle est dissoute. Le bouillon dégage alors une forte odeur de putréfaction ; il contient une certaine quantité d'hydrogène sulfuré et de l'ammoniaque.

Au bout de deux jours, le lait est tout à fait coagulé, avec rétraction du caillot et exsudation d'un sérum limpide dont la



réaction est d'abord acide. Il peut se produire, dans ce milieu, des bulles de gaz. La culture dégage alors une odeur très nette d'acide butyrique. Après cinq à six jours, le caillot est lentement attaqué et dissous. Le liquide, après la dissolution du caillot, est d'une couleur jaune sale. Il a une réaction fortement alcaline et il dégage une odeur caractéristique de putréfaction.

Les proteus qui proviennent des substances animales altérées sont ceux qui produisent la plus forte coagulation du lait.

Lorsque la pénétration de l'air dans le tube est insuffisante, la coagulation du lait se trouve ralentie.

Jusqu'ici, nous avons décrit les cultures aérobies, mais le proteus croît aussi à l'abri de l'air. Le bouillon et l'eau peptonée se troublent fortement ; la gélatine est plus lentement et incomplètement liquéfiée ; elle devient très limpide, car tous les germes tombent de suite en flocons dans le fond.

Le lait est coagulé moins vite, quelquefois après une semaine. L'albumine coagulée est attaquée sans devenir transparente. Dans les tubes de bouillon avec de l'albumine, on obtient une forte quantité d'hydrogène sulfuré et de l'ammoniaque.

Le glucose, le saccharose, le maltose sont fermentés ; dans le vide, le lactose ne fermente pas toujours. Ensemencé dans le vide en bouillon tournesolé, le proteus le décolore, après dix à douze heures d'étuve à 37 degrés.

Toutes nos cultures de proteus en bouillon, en eau peptonée, en gélatine, gélose non additionnée d'autres substances, soit au contact ou à l'abri de l'air, dégagent une mauvaise odeur, très forte, caractéristique du proteus.

Les cultures en plaques de gélatine produisent une bien plus grande quantité d'ammoniaque que dans les autres milieux. Tous ces caractères sont, à divers degrés, communs à tous les proteus, mais ils sont bien plus nets pour les échantillons qui proviennent de substances animales en voie de putréfaction.

*Agglutination.* — A défaut des différences morphologiques, peut-on distinguer les espèces de proteus au moyen de l'agglutination ?

Dans le but de répondre à cette question, nous avons injecté à des lapins des émulsions de cultures des différents échantillons de proteus, afin d'obtenir un sérum spécifique.

Les échantillons étaient au nombre de neuf. Ils provenaient

des selles humaines normales, diarrhéiques, de mouches des fumiers, de la viande pourrie, du lait, des bananes, des excréments de poules nourries au régime normal et de poules nourries de viande.

Les cultures sur la gélose inclinée étaient de vingt-quatre heures. Nous avons versé dans chaque tube 9 centimètres cubes d'eau physiologique. L'émulsion filtrée sur papier était tenue pendant trois quarts d'heure à 60 degrés. Les injections étaient faites dans le péritoine et à sept jours d'intervalle.

On injecte la première fois 0,25 d'émulsion, la deuxième 0,50, la troisième 1 centimètre cube. La quatrième injection (1 cent. cube) est de culture vivante. Après 5 à 6 jours, on saigne l'animal et on éprouve le pouvoir agglutinant du sérum vis-à-vis

AGGLUTINATION PAR LE SÉRUM PROVENANT DE LAPINS INJECTÉS AVEC DES ÉMULSIONS DE CULTURES RETIRÉES DE :									
ORIGINE des CULTURES de PROTEUS	SELLES normales.	SELLES diarrhéiques.	MOUCHES de fumier.	FUMIER	VIANDE putréfiée.	LAIT	BANANES	EXCRÉMENTS de poules.	
								Régime normal.	Régime carne.
Fumier. . . . .	0	0	0	+	0	0	0	0	0
Lait . . . . .	0	0	0	0	0	+	0	0	0
Selles diarrhéiques . . . . .	0	+	0	0	0	0	0	0	0
Viande putréfiée. . . . .	0	0	0	0	+	0	0	0	0
Excréments ( Régime normal. de poules. } Régime carné.	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Bananes . . . . .	0	0	0	0	0	0	+	0	0
Mouches de fumier : a. . . . .	0	0	+	0	0	0	0	0	0
— : b. . . . .	0	0	0	+	0	0	0	0	0
Selles normales . . . . .	+	0	0	0	0	0	0	0	0



des autres échantillons. Le tableau ci-joint donne les résultats obtenus.

A une dilution supérieure à 1/10, le sérum n'agglutinait que l'échantillon qui avait servi à le préparer. A 1/10 et au-dessous, il agglutinait quelquefois aussi les autres échantillons.

Dans ce dernier cas, il les agglutinait plus lentement que les échantillons qui avaient servi à préparer l'animal. Quand on injecte aux lapins une plus grande quantité de proteus, grâce à l'addition du liquide du Gram, à l'émulsion microbienne, le sérum agglutine ce proteus à un titre plus élevé que dans l'expérience précédente, mais la différence de l'agglutination des divers proteus est, en somme, à peu près la même.

Une fois seulement, un échantillon de proteus provenant des mouches a été agglutiné, au même titre, par un sérum de lapin traité avec du proteus du fumier.

Sans doute, ces mouches, capturées au voisinage du fumier, avaient pris sur celui-ci le même proteus.

#### CONCLUSIONS.

Les examens dont nous donnons les résultats ont été pratiqués de telle manière, sur des substances si nombreuses et de qualités si diverses, qu'ils nous permettent, en les groupant, de tirer quelques conclusions.

Comme on le voit, nous avons cherché à nous rendre compte de la fréquence de ce microbe dans l'ambiance, en envisageant surtout les diverses sources de contamination pour l'homme.

Le proteus se trouve constamment dans les putréfactions de toute nature. En effet, dans la viande en voie de décomposition, c'est un microbe constant et des plus actifs; nous l'avons trouvé à chaque ensemencement. Dans les fumiers, où s'opèrent des putréfactions variées, il existe presque constamment. Si nous ne l'avons trouvé que dans 80 p. 100 des cas, c'est qu'à la surface du fumier, le proteus se trouve dans de mauvaises conditions, par suite de l'action de la dessiccation et de la lumière.

Nos observations sur les saucissons crus indiquent que le microbe est fréquent dans cet aliment.

Dans l'air des appartements, nous ne l'avons pas trouvé; deux fois seulement dans l'air du laboratoire.

Il faut noter que dans l'eau potable de Paris nous ne l'avons jamais trouvé en ensemençant de petites quantités; nous avons obtenu un résultat positif sur quatre-vingts examens en ensemençant de grandes quantités d'eau. Au contraire, il est très fréquent dans les eaux des ruisseaux des rues qui renferment des substances en putréfaction et qui véhiculent toutes sortes d'ordures.

Nous devons noter aussi que nous l'avons trouvé dans le lait pasteurisé vendu dans les crémeries de Paris. On sait que le proteus ne résiste pas à la température de 60 degrés : On doit donc expliquer sa présence par la contamination postérieure à la pasteurisation; et cette observation nous semble d'autant plus juste que le lait provenant directement des fermes le contient plus rarement.

En somme, le proteus est rare dans le lait qui n'est pas manipulé malproprement.

Dans les huîtres, le microbe est rare et provient certainement des eaux contaminées où elles vivent.

Plus intéressants nous paraissent les résultats obtenus avec les aliments végétaux.

Nous pouvons distinguer deux cas : les produits végétaux qui sont en contact direct avec le sol contiennent souvent le proteus; son absence dans les autres végétaux est la règle. Font exception les bananes qui sont peut-être contaminées pendant la récolte ou le transport. La température joue un rôle important dans la contamination des produits végétaux par le proteus. En été, ce microbe est plus fréquent qu'en hiver; il est bien probable que la température extérieure favorise son développement. Sans doute, les principales sources de contamination sont les matières en décomposition; en effet, tandis que les mouches des appartements ne renferment pas de proteus, les mouches voisines des fumiers et des viandes putréfiées le véhiculent souvent.

Les propriétés du proteus sont variables d'une génération à l'autre. Elles ne peuvent donc servir à distinguer plusieurs espèces.

L'agglutination permet d'établir une différence entre le proteus qui a servi à préparer un sérum et d'autres proteus,



mais ces différences ne sont pas de celles qui permettent de distinguer des espèces.

L'étude bactériologique ne nous donne en somme aucune raison de distinguer diverses espèces de ce microbe. Il n'y a donc pas lieu de chercher un lien entre leurs caractères biologiques et les propriétés pathogènes qu'ils peuvent posséder.

Tous les proteus pouvant être pathogènes, leurs propriétés pathogènes doivent être étudiées dans chaque cas particulier. Cette question fera l'objet d'un second mémoire où nous étudierons le proteus au point de vue de l'immunité : vaccination, fixation de l'alexine, indice opsonique et sérothérapie.

En terminant, je dois exprimer toute ma reconnaissance à M. le professeur Metchnikoff, qui a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et me guider dans mes recherches.

---

Le Gérant : G. MASSON.

---

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.